

Aus dem Institut für
Parasitologie und Tropenveterinärmedizin
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Nachweis einer Interferon-Produktion
beim Pony im Verlauf einer experimentellen
Infektion mit Trypanosoma evansi
(STEEL, 1885)**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jochen Krüger
Tierarzt aus Gelsenkirchen

Berlin 1985
Journal-Nr. 1253



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548822_0003

Druck: Copy-Center in Dahlem

Ladenbergstraße 2-4

1000 Berlin 33

Tel. 831 40 25

Aus dem Institut für
Parasitologie und Tropenveterinärmedizin
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Nachweis einer Interferon-Produktion beim Pony
im Verlauf einer experimentellen Infektion
mit Trypanosoma evansi
(STEEL, 1885).

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jochen Krüger
Tierarzt aus Gelsenkirchen

Berlin 1985
Journal-Nr. 1253

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin.

Fachbereichssprecher : Prof. Dr. F. Hörchner

Erster Gutachter : Prof. Dr. F. Hörchner

Zweiter Gutachter : Prof. Dr. V. von Bülow

Tag der Promotion : 24. September 1985

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	
2.1. Immunologische Reaktionsmechanismen	2
2.1.1. B-Zellen	2
2.1.2. T-Zellen, K-Zellen, NK-Zellen	3
2.1.3. Makrophagen	5
2.1.4. Lymphokine	5
2.2. Interferon	6
2.2.1. Einteilung der Interferone	7
2.2.2. Interferon-Induktoren	8
2.2.3. Interferon-Produzenten	9
2.2.4. Genetische Kodifizierung der Interferone	10
2.2.5. Artspezifität der Interferone	10
2.2.6. Biologische Wirkung der Interferone	10
2.2.7. Einfluß von Interferon auf das Immunsystem	15
2.3. Induktion einer Interferon-Produktion im Verlauf von Protozoonosen	18
2.4. Modulation des Immunsystems durch eine Infektion mit salivarischen Trypanosomen	21
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	
3.1. Material und Methoden	25
3.2. Ergebnisse	31
3.2.1. Parasitologischer Verlauf einer experimen- tellen Trypanosoma evansi Infektion des Ponys	31
3.2.2. Nachweis einer antiviral wirksamen Substanz (Interferon) mit der Semimikrotitrationsme- thode	32
3.2.3. Charakterisierung der antiviral wirkenden Sub- stanzen als Interferone	43

4. DISKUSSION DER ERGEBNISSE	49
5. ZUSAMMENFASSUNG - SUMMARY	58
6. LITERATURVERZEICHNIS	60

1. Einleitung

Bei *Trypanosoma evansi* (T.evansi) handelt es sich um einen Hämoflagellaten, der 1880 von EVANS das erste Mal beschrieben wurde. Der Parasit soll sich durch Vektorwechsel aus *Trypanosoma brucei* (T.brucei) entwickelt haben (HOARE, 1957, 1972; WOO, 1977) und ist der Erreger einer parasitären Erkrankung, die unter dem Begriff "Surra" bekannt ist.

Das Hauptverbreitungsgebiet von T.evansi liegt in Nord- und Ostafrika, Asien, Mittel- und Südamerika. Sowohl Equiden, Cameliden, Boviden als auch der indische Elefant sind für den Erreger empfänglich. Als Leitsymptome bei Infektionen mit T.evansi gelten mehrfache, verschieden hohe Parasitämieschübe und damit einhergehendes, intermittierendes Fieber. Bei fortschreitender Trypanosomiasis kommt es bei Pferden zu einem allmählichen Verlust der Konstitution sowie einer progressiven Anämie mit zunehmenden Schwächeerscheinungen (SCHÖNEFELD, 1979). Die Übertragung der Erreger geschieht azyklisch durch Tabaniden, Stomoxiden und in Südamerika durch Vampire (*Desmodus rotundus*) (HOARE, 1965).

Neben vielfältigen Veränderungen bestimmter Lymphozytenpopulationen bei T.brucei infizierten Mäusen (MAYOR-WITHEY et al., 1978) wiesen bereits MARTINOTTI et al. (1981) und BANCROFT et al. (1983) im Serum der befallenen Tiere Interferon nach. Da eine phylogenetische Verwandtschaft von T.brucei und T.evansi diskutiert wird, soll in dieser Arbeit untersucht werden, ob auch im Verlauf einer experimentellen T.evansi Infektion bei Ponys ein Nachweis von Interferon geführt werden kann.

Nach der Identifizierung der im Serum der Tiere festgestellten antiviralen Substanz als Interferon soll ferner geprüft werden, ob die Synthese von Interferon mit den beobachteten Parasitämien, oder auch mit anderen, immunologischen Parametern korreliert.

2. LITERATURÜBERSICHT

2.1. Immunologische Reaktionsmechanismen

Dringen Antigene in einen Säugetierorganismus ein, so werden sie mit dem spezifischen und unspezifischen Abwehrsystem konfrontiert. Bei der spezifischen Immunantwort werden hauptsächlich bursaäquivalente Lymphozyten (B-Zellen), thymusabhängige Lymphozyten (T-Zellen) und Makrophagen aktiv.

2.1.1. B-Zellen

Durch einen adäquaten antigenen Stimulus entwickeln sich die sensibilisierten B-Zellen ("virgin-cells") über das Stadium der Immunoblasten zu Memory-Zellen und reifen Plasmazellen. Diese Plasmazellen sind dann befähigt, große Mengen antigenspezifischer Immunglobuline zu synthetisieren und abzugeben. Handelt es sich bei diesem initialen antigenen Kontakt um ein thymusunabhängiges Antigen, so sind lediglich die B-Zellen an der Immunantwort beteiligt. Trifft dagegen ein thymusabhängiges Antigen auf das Immunsystem, so soll der Reifungsprozeß der "virgin-cells" durch Helfer-T-Zellen allein oder mit Unterstützung von Makrophagen gefördert, oder unter dem Einfluß von Makrophagen und Suppressor-T-Zellen gehemmt werden. Des weiteren wirkt eine hohe Konzentration freier Antikörper über einen negativen Rückkopplungsmechanismus der Heranreifung von Plasmazellen entgegen.

Nach erfolgter antigener Stimulation sind im Blut die verschiedenen Immunglobulin-Klassen in folgender Reihenfolge nachweisbar: IgM, IgG, IgA. Für die Umschaltung ("switch") von primärem IgM auf die Produktion von IgG wird bei einem thymusabhängigen Antigen eine Kooperation von Helfer-T-Zellen und reifen Plasmazellen verantwortlich gemacht. Handelt es sich dagegen um ein thymusunabhängiges Antigen, so bleibt die Produktion von Immunglobulinen weitgehend auf der Stufe von

IgM stehen , und keine oder nur eine geringe Synthese von IgG wird beobachtet (KONGSHAVN et al., 1976).

2.1.2. T-Zellen, K-Zellen, NK-Zellen

Die ruhenden Vorstadien der T-Zellen bedürfen einer entsprechenden antigenen Stimulation, um über eine antigenspezifische Blastentransformation letztendlich als aktivierte T-Zellen vorzuliegen. Die heterogene Gruppe der T-Zellen läßt sich nach funktionalen Gesichtspunkten zum einen in Regulator-T-Zellen und zum anderen in Effektor-T-Zellen aufteilen (KATZ, 1977). Die Fraktion der Regulator-T-Zellen setzt sich wiederum aus Helfer- und Suppressor-T-Zellen zusammen. Die Helfer-T-Zellen haben nicht nur einen quantitativen und qualitativen Einfluß auf die Antikörperproduktion, sie werden auch für die Proliferation und Differenzierung von Effektor-T-Zellen benötigt (KATZ, 1980). Anstelle dieser antigenspezifischen Helfer-T-Zellfunktion können unter bestimmten Bedingungen auch lösliche T-Zellfaktoren (Lymphokine) über einen antigenunspezifischen Mechanismus stimulierend auf B-Zellen wirken (KONGSHAVN et al., 1976). Die Suppressor-T-Zellen hemmen vorwiegend die Heranreifung von Plasmazellen und unterdrücken somit die Immunantwort auf bestimmte Antigene. Diese Gruppe der T-Zellen unterteilt KATZ (1977) in antigenspezifische und antigenunspezifische T-Lymphozyten. Antigen-spezifisch sind diejenigen Suppressor-T-Zellen, deren Bildung durch spezifische Determinanten induziert wird, und welche dann ihre suppressive Eigenschaft nur gegen dieses spezifische Antigen entfalten. Die Aktivierung antigenunspezifischer Suppressor-T-Zellen kann zwar auch durch spezifisches Antigen induziert werden, ihr Effekt richtet sich dann aber auch gegen heterologe Antigene.

Die Funktion der Helfer-T-Zellen wird durch Suppressor-T-Zellen reguliert und umgekehrt, wobei die dominierende Funktion abhängig ist von der Menge des vorliegenden Antigens (GERSHON, 1974; MARCHALONIS, 1980). So wirken T-Zellen bei niedriger Antigendosis stimulierend auf die B-Zellen, wogegen hohe Konzentrationen von Antigen den suppressiven Effekt der T-Zellen

gegenüber den B-Zellen hervorheben (KONGSHAVN et al., 1976). Die Effektor-T-Zellen sind im Rahmen der zellvermittelten Immunantwort an der allergischen Reaktion vom Spättyp (DTH) und als direkt zytotoxisch wirkende T-Zellen (CTL) an der Transplantationsimmunität, der immunologischen Bekämpfung von Tumoren und z.B. an der Vernichtung von Plasmodien infizierten Zellen (BROWN, 1971; JAYAWARDENA et al., 1975, 1982) beteiligt. Die Unterscheidung zwischen beiden Effektor-T-Zelltypen ist durch ihre verschiedenen Oberflächenantigene möglich. Die zytotoxische Aktivität der CTL ist antikörperunabhängig und an eine vorherige Sensibilisierung der T-Zellen gebunden (TIZARD, 1981). Die Zytotoxizität, ein wesentlicher Mechanismus der zellvermittelten Immunität, wird nicht nur durch die CTL, sondern auch durch andere Zellpopulationen bewirkt.

So wird auch von sogenannten Killer-Zellen (K-Zellen oder Null-Zellen) berichtet, die weder die Merkmale von B-Zellen noch von T-Zellen besitzen (KONGSHAVN et al., 1976; BARRIGA, 1981). Es handelt sich dabei um Zellen, die Rezeptoren für Immunkomplexe tragen und ohne Präsensibilisierung eine antikörperabhängige Zytotoxizität verursachen (PARILLO und FAUCI, 1978).

Eine weitere Gruppe zytotoxisch wirksamer Zellen stellen die Natural-Killer-Zellen (NK-Zellen) dar. Sie sind die Effektorzellen einer "natürlichen Zytotoxizität". Auch diese Zellen können ohne Präsensibilisierung eine Lysis der Zielzellen induzieren (TIZARD, 1981). Sie bieten somit unter anderem einen Schutz vor Tumorwachstum (HERBERMAN, 1980), vor virusinfizierten Zellen (KIRCHNER und SPECHTER, 1982) und möglicherweise auch vor protozoären Infektionen wie z.B. *Trypanosoma cruzi* (HATCHER und KUHN, 1982).

2.1.3. Makrophagen

Makrophagen üben, insbesondere in aktiviertem Zustand, zahlreiche wichtige Unterstützungsfunktionen in der Fremdkörperabwehr aus. Diese Aktivierung erfahren sie durch von sensibilisierten T-Zellen produzierte, lösliche Faktoren, den sogenannten Lymphokinen (WING und REMINGTON, 1980). Im Vordergrund der Makrophagenfunktionen steht das Einfangen und Aufarbeiten von thymusabhängigem Antigen mit anschließender Antigenpräsentation, wodurch eine verbesserte Immunantwort erzielt wird. Unter bestimmten in vitro Bedingungen können Makrophagen oder deren lösliche Produkte (Monokine) die Immunantwort auf thymusabhängige Antigene hemmen oder auch stimulieren und scheinen somit ebenfalls die B-Zellantwort modulierend beeinflussen zu können.

Werden Makrophagen durch T-Zellmediatoren (Lymphokine) aktiviert, so entwickeln sie z.B. unter dem Einfluß von MAF (Macrophage activating factor) die Fähigkeit, die vorhandenen fremden Antigene unspezifisch aufzunehmen und zu eliminieren. Andererseits können Makrophagen durch das Lymphokin SMAF (Specific macrophage arming factor) derart aktiviert werden, daß sie nur diejenigen Antigene phagozytieren und beseitigen, die die T-Zellen veranlaßt haben, den SMAF zu produzieren. Das bedeutet, daß die Funktion dieser "bewaffneten Makrophagen" (KONGSHAVN et al., 1976) auch spezifisch gerichtet sein kann. Zusätzlich sind Makrophagen auch an der Stimulation von Lymphozyten in einer gemischten Lymphozytenkultur (MLC) oder durch Mitogene und der Bildung zytotoxischer T-Zellen (CTL) beteiligt (WEISS und FITCH, 1978).

2.1.4. Lymphokine

Lymphokine stellen als Mediatoren der zellulären Immunität einen wichtigen Bestandteil des Abwehrsystems dar. Sie sind vorwiegend Produkte von spezifisch sensibilisierten T-Zellen und funktionsbeeinflussend auf andere Zellen gerichtet. So wirken Lymphokine unter anderem mitosefördernd und chemotak-

tisch und werden auch als Mediatoren zwischen sensibilisierten T-Zellen und Makrophagen angesehen. Lymphokine weisen als Proteine ein Molekulargewicht zwischen 25000 und 75000 Daltons auf (TIZARD, 1981). Nachfolgend sind nur einige der von TIZARD (1981) angeführten, von sensibilisierten T-Zellen produzierten Lymphokine aufgelistet:

MAF	Macrophage activating factor
MIF	Macrophage migration inhibiting factor
MSF	Macrophage stimulating factor
SMAF	Specific macrophage arming factor
IFN- γ	Interferon-gamma

Bei der Vielfalt der heute bekannten Lymphokine ist noch nicht geklärt, ob es sich um wenige Lymphokine mit großem Wirkungsspektrum handelt, oder ob jeder immunologischen Wirkung ein einzelnes Lymphokin zuzuordnen ist (HUANG et al., 1971; SCHULTZ, 1977; BARRIGA, 1981; KELSO et al., 1982; MELTZER et al., 1982; HAMANN und KRAMMER, 1983; KALTMANN et al., 1983; LOHMANN-MATTHES, 1983; ANDREW et al., 1984).

2.2. Interferon

Im Jahre 1957 entdeckten ISAACS und LINDENMANN bei der Inkubation von hitzeinaktivierten Influenza-Viren mit Chorionallantoidismembranen angebrüteter Hühnereier, daß eine spätere Inkubation dieser Membranen mit einem virulenten Virus zu keiner Vermehrung dieser Viren führte. Es gelang ihnen der Nachweis einer als Interferon bezeichneten Substanz, die offenbar in das Nährmedium freigesetzt wurde und für das Interferenzphänomen verantwortlich gemacht werden konnte.

Interferone sind Glykoproteine, die die Replikation eines weiten Spektrums von Viren (RNS- und DNS-Viren) unspezifisch hemmen. Diese antivirale Wirkung wird entfaltet durch zelluläre metabolische Prozesse, welche eine Synthese neuer zellulärer RNS und Proteine einschließen (COMMITTEE ON INTERFERON NOMEN-

CLATURE, 1980).

2.2.1. Einteilung der Interferone

Interferone werden in Interferon-alpha ($\text{IFN-}\alpha$), Interferon-beta ($\text{IFN-}\beta$) und Interferon-gamma ($\text{IFN-}\gamma$) unterteilt. Trotzdem besitzen sie nach HEIDEL (1974) folgende gemeinsame physiko-chemische Eigenschaften:

- ein Molekulargewicht von 16000 bis 25000 Daltons
- nicht dialysierbar
- nicht sedimentierbar
- isoelektrischer Punkt bei pH 4,5 - 5,0
- trypsinlabil
- stabil gegenüber Ribo- und Desoxyribonuklease

In erster Linie stellen die Interferone eine Gruppe von Glykoproteinen mit ähnlicher biologischer Wirkung dar, haben aber auch teilweise unterschiedliche physiko-chemische Eigenschaften. Die Unterschiede und somit auch Einteilungs- und Charakterisierungskriterien von Human-Interferonen sind einmal in deren Produzenten (Zelltypen) und dann in deren pH2-Stabilität bzw. -Labilität zu finden. So wird nach entsprechender Induktion $\text{IFN-}\alpha$ von Leukozyten oder Lymphozyten und $\text{IFN-}\beta$ von Fibroblasten synthetisiert. Beide Interferone zeichnen sich durch eine pH2-Stabilität aus. Dagegen wird $\text{IFN-}\gamma$ durch bestimmte, vorher stimulierte T-Zellen gebildet und ist pH2-labil. $\text{IFN-}\gamma$ ist somit Repräsentant von zwei Gruppen biologisch wichtiger Moleküle, den Lymphokinen und den Interferonen. So ist $\text{IFN-}\gamma$ das einzige Lymphokin mit antiviraler Wirkung, auch wenn diese gegenüber dem immunregulatorischen Effekt von $\text{IFN-}\gamma$ nur zweitrangig ist. Die oben beschriebenen Zusammenhänge sind nachfolgend nach KIRCHNER und SPECHTER (1982) und TOY (1983) tabellarisch zusammengefaßt:

IFN-Bildner	Mol.Gew.	Induktoren	pH2-Verh.	IFN-Typ
Leukozyten	16000-20000	-Virus	stabil	IFN- α
Lymphoblast		-synth. RNS		
		-Chemikalien		
Fibroblasten	20000	-s.o.	stabil	IFN- β
T-Zellen	17000-25000	-spez. Anti-gene -T-Zellmito-gene	labil	IFN- γ

Das Human-IFN- α besitzt eine gewisse Heterogenität. LAWN (1981) stellte 20 Subtypen von diesem Interferon-Typ fest. Solche Unterteilungen wurden bei IFN- β und IFN- γ bis jetzt noch nicht beschrieben. Jedoch gibt es nach SEGHAL et al. (1981) verschiedene m-RNS-Typen für IFN- β , was darauf hinweist, daß auch bei diesem Interferon-Typ eine Heterogenität nicht auszuschließen ist.

2.2.2. Interferon-Induktoren

Die Interferon-Produktion kommt in vitro und in vivo durch virale und eine ganze Reihe nichtviraler Induktoren zustande. Als wirksame virale Induktoren gelten z.B. die meisten Myxoviren (JUNGWIRTH et al., 1969/1970; STEWART II, 1979). Für die nicht-viralen Induktoren seien nachfolgend nur einige Beispiele gegeben:

- Pilze (BANKS et al., 1970)
- Bakterien (HO, 1964)
- Rickettsien (KAZAR, 1966)
- Mykoplasmen (COLE et al., 1976; KIRCHNER et al., 1983b)
- Protozoen (MARTINOTTI et al., 1981)

- bakterielle Stoffwechselprodukte (KONO, 1967)
- Phytomitogene
 - Phythamagglutinin (PHA) (WHEELLOCK, 1965)
 - Concanavalin A (ConA) (WALLEN et al., 1973)
 - Pokeweed Mitogen (PWM) (FRIEDMAN und COOPER, 1967)
- synth. Polymere mit Anioncharakter
 - Polyvinylsulfat u.a. (CAME et al., 1969)
- Polynukleotide
 - natürliche
 - z.B. REO-Viren-RNS (TYTELL et al., 1967)
 - synthetische
 - z.B. Polyribonukleotid-Polyinosinzytidylsäure (Poly I:C) (FIELD et al., 1967)

Auch im Verlauf einer gemischten Lymphozytenkultur (MLC) wird die Synthese von Interferon stimuliert (GIFFORD et al., 1971; BACH et al., 1976; KIRCHNER et al., 1979; LANDOLFO et al., 1981).

2.2.3. Interferon-Produzenten

Für die Bildung von Interferon kommen in vivo und in vitro eine Vielzahl von Zelltypen in Frage (STEWART II, 1979). So sind z.B. Makrophagen, Fibroblasten, Lymphozyten, andere mononukleäre Zellkulturen und Diploidzellstämme nach Induktion befähigt, Interferon zu synthetisieren (VILCEK und LOWY, 1967).

Bei der experimentellen Interferon-Produktion in vitro zeigte sich, daß bestimmte Zellpopulationen, angeregt durch spezifische Induktoren, verschiedene Interferon-Typen produzieren. So antworteten periphere Human-Blutlymphozyten nach Stimulation mit ConA oder PHA sowohl mit Proliferation als auch einer Synthese und Abgabe von Human-IFN- γ (DE LEY et al., 1980; WIRANOWSKA-STEWART und STEWART II, 1981). Zusätzlich ließ sich mit der gleichen Zellart nach Anwendung von ConA Human-IFN- β

(DE LEY et al., 1980) und nach Stimulation mit PHA Human-IFN- α (WIRANOWSKA-STEWART und STEWART II, 1981) nachweisen.

2.2.4. Genetische Kodifizierung der Interferone

TRENT et al. (1982) wiesen nach, daß die Gene von IFN- α und IFN- β auf dem kurzen Arm von Chromosom 9 sitzen, das Gen von IFN- γ aber auf dem langen Arm von Chromosom 12 lokalisiert ist (OWERBACH et al., 1981). Im molekularen Aufbau der Gene von Human-Interferonen zeigte sich, daß die Gene aus ungefähr 160 Aminosäuren aufgebaut sind. Die Aminosäuresequenz der Gene von IFN- α und IFN- β haben miteinander eine große Ähnlichkeit. Die Gene der beiden Interferon-Typen besitzen keine Introns. Dagegen weist das Gen von IFN- γ eine sich von IFN- α und IFN- β unterscheidende Struktur auf und enthält zusätzlich noch drei Introns (GRAY und GOEDEL, 1982).

2.2.5. Artspezifität der Interferone

In der Regel sind die Interferone artspezifisch. So entfalten die Interferone einer Spezies die beste Wirkung mit körpereigenen Zellen. GRESSER et al. (1974) wiesen bei IFN- α auf Ausnahmen der Artspezifität hin. Bei verschiedenen Spezies konnten sie in vitro mit Human-IFN- α einen antiviralen Schutz hervorrufen. Dabei induzieren sie in heterologen Zellen einen stärkeren antiviralen Schutz, als in homologen Humanzellen. Mit porcine und bovine Interferon ließ sich auf Humanzellen kein derartiges Ergebnis erzielen (GRESSER et al., 1974). Dieses wurde in anderen heterologen Zellsystemen bestätigt (DESMYTER und STEWART II, 1976; VENGRIS und MARE, 1972).

2.2.6. Biologische Wirkungen der Interferone

Der Kontakt zwischen Interferon und Zielzelle kommt durch spezifische Membranrezeptoren zustande. IFN- α und IFN- β benutzen dabei die gleichen Rezeptoren, wogegen IFN- γ seine Wirkung über separate Rezeptoren vermittelt. BRANCA und BAGLIONI (1981) mar-

kierten den Interferon-Subtyp Human-IFN- α A radioaktiv und stellten fest, daß es zwischen Human-IFN- γ und Human-IFN- α A bei der Zellbindung zu keiner Konkurrenz kam. Im Gegensatz dazu konkurrierten andere Human-IFN- α -Subtypen und Human-IFN- β mit dem markierten Human-IFN- α A. AGUET et al. (1982) bestätigten diese Ergebnisse mit murinem IFN- α , IFN- β und IFN- γ . Außer der Bindung von Interferon an die passenden Rezeptoren sind möglicherweise noch andere Membranreaktionen nötig, um in der Zielzelle den gewünschten biologischen Effekt zu erzielen (CHANY, 1976).

Ferner scheint das Chromosom 21 auf die Ausbildung eines antiviralen Schutzes in der Zielzelle einen entscheidenden Einfluß zu haben. Fehlt zum Beispiel human-murinen Hybridzellen das Chromosom 21, so verlieren diese Zellen die Eigenschaft, auf Human-Interferon zu reagieren und eine antivirale Wirkung auszubilden (TAN et al., 1974). Des weiteren unterstützten WIRANOWSKA-STEWART und STEWART II (1977) und CUPPLES und TAN (1977) die Annahme von CHANY et al. (1975) und REVEL et al. (1976), daß das Chromosom 21 Gene trägt, die die Ausbildung von Rezeptoren für Interferon regeln. Dagegen vertraten DE CLERCQ et al. (1975, 1976) die Meinung, daß das Chromosom 21 keinen Einfluß auf die Ausbildung von Rezeptoren für Human-Interferon besitzt. WIRANOWSKA-STEWART und STEWART II (1977) machten für die differierenden Resultate methodische Unterschiede verantwortlich.

Gegenüber Viren verhalten sich alle Interferone virusunspezifisch, das heißt, sie entfalten gegenüber allen Viren die gleiche antivirale Wirkung (STEWART II, 1979). Außerhalb der Zielzelle hat Interferon keine Wirkung auf die Viren. Auch die Adsorption und Penetration der Viren soll durch Interferon nicht beeinflußt werden (JUNGWIRTH et al., 1969/1970). Der antivirale Schutzmechanismus von Interferon richtet sich also gegen die intrazelluläre Virus-Replikation.

Interferone bewirken die Produktion verschiedener, in ihrer Wirkungsweise noch nicht bekannter Polypeptide. WEIL et al. (1983) stellten heraus, daß sich die von IFN- γ induzierten Polypeptide quantitativ und qualitativ von denen der anderen In-

terferone unterscheiden.

Weiterhin induzieren die Interferone die Bildung verschiedener Enzyme. Zwei Enzymsysteme sind genauer untersucht worden. Zum einen handelt es sich um die 2'5'-oligo-A-Synthetase, die über verschiedene Zwischenschritte eine Endoribonuklease aktiviert, die dann sowohl die RNS der Viren, als auch die m-RNS und die r-RNS der Virus-Zielzelle spalten kann (LENGYEL, 1982). Zum anderen wurde nach Kontakt der Zellen mit Interferon eine Proteinkinase isoliert, die möglicherweise die Translation sowohl der m-RNS der Virus-Zielzelle als auch der m-RNS der Viren blockiert (EPSTEIN et al., 1980).

Über die Wechselwirkungen von Interferon und Prostaglandinbiosynthese wird in der Literatur sehr unterschiedlich berichtet. So sollen Human-Interferone und der Interferon-Induktor Poly I:C (Polyribonukleotid-Polyinosinzytidylsäure) die Synthese von Prostaglandin E (PGE) stimulieren (YARON et al., 1977). FUSE et al. (1982) stellten ebenfalls eine durch Human-Interferon induzierte Synthese von PGE und PGF_2 fest, machten aber die Einschränkung, daß diese Produktion von Prostaglandinen an bestimmte Zellen gebunden sei. Obwohl POTTATHIL et al. (1980) diese Ergebnisse für das murine System nicht bestätigen konnten, postulierten sie, daß die Zyklooxygenase, die für den ersten Schritt der Prostaglandinbiosynthese als Katalysator essentiell ist, eine bedeutende Rolle bei dem durch murines Interferon induzierten antiviralen Schutz spielen soll. Angesichts dieser Beziehung zwischen Interferon und Prostaglandinen vermuteten FUSE et al. (1982), daß auch der durch Human-Interferon bewirkte antiproliferative Effekt teilweise durch Protstaglandine vermittelt wird. Dagegen demonstrierten BORASCHI et al. (1982, 1983, 1984), daß $\text{IFN-}\alpha$, $\text{IFN-}\beta$ und $\text{IFN-}\gamma$ die durch Makrophagen vermittelte suppressive Aktivität bezüglich der Lymphozytenproliferation hemmten. So bewirkten $\text{IFN-}\alpha$ und $\text{IFN-}\beta$ eine verringerte Abgabe von PGE und O_2^- durch Makrophagen, wogegen $\text{IFN-}\gamma$ eine verminderte Produktion von PGE und parallel dazu eine Induktion von Interleukin 1 (IL1) in den Makrophagen hervorrief. Auch die Wirkung von Prostaglandinen und Interferon auf die NK-Zellaktivität wird unterschiedlich diskutiert. So wiesen DJEU et al.

(1979a, 1979b) nach, daß Interferon und Interferon-Induktoren die Zytotoxizität von NK-Zellen steigend beeinflussen können. BRUNDA et al. (1980) machten darauf aufmerksam, daß einige Prostaglandine in vitro allein angewandt eine ausgeprägt suppressive Wirkung auf murine NK-Zellen entfalteten. Dagegen bewirkte eine Kombination von verschiedenen gereinigten Human-Interferonen und Prostaglandin E₂ eine erhöhte Zytotoxizität von Human-NK-Zellen (TARGAN, 1981). Im Verlauf weiterer Untersuchungen stellten TARGAN und STEBBING (1982) jedoch fest, daß der gemessene Aktivitätsanstieg der NK-Zellen neben der Wirkung von Prostaglandin hauptsächlich auf die Kombination verschiedener Interferon-Typen und -Subtypen zurückzuführen sei.

Der antiproliferative Effekt von Interferon rückte gegenüber der antiviralen Wirkung in den Vordergrund, als GRESSER et al. (1969) in vivo feststellten, daß Interferon das Wachstum bösartiger Tumoren auch nichtviraler Genese hemmte (GRESSER und TOVEY, 1978). Interferon könnte dabei entweder indirekt über immunologische Mechanismen (TOY, 1983) oder direkt auf die Tumorzellen (BROUTY-BOYE, 1980) wirken, da durch Interferon sowohl in malignen Zellen (COLLYN D'HOOGE et al., 1977) als auch in gesunden Körperzellen (LINDAHL-MAGNUSSON et al., 1971) die Zellteilung verlangsamt abläuft. Eine Erklärung dafür wird unter anderem in der Verlängerung der zwischen zwei Mitosen gelegenen Interphase (G1+S+G2) vermutet (BALKWILL und TAYLOR-PADIMITRIOU, 1978). Dieser Mechanismus wird eventuell durch eine Blockierung verschiedener, für den Zellstoffwechsel wichtiger Enzymsysteme hervorgerufen (ROSSI et al., 1977; SREEVALSAN et al., 1979). GRESSER und TOVEY (1978) nehmen dagegen an, daß die Reduzierung der DNS-, RNS- und Proteinbiosynthese nicht allein für den antiproliferativen Effekt von Interferon verantwortlich gemacht werden kann. Deshalb wurde zusätzlich untersucht, ob auch Veränderungen im strukturellen Aufbau der Zielzellen zu dieser Wirkung von Interferon beitragen können. So beobachteten PFEFFER et al. (1980b) im Zusammenhang eines Proliferationsrückgangs von Human-Fibroblasten eine Vergrößerung der Zelloberfläche und des Zellvolumens und eine Reduzierung der Zellmotilität. Ein schneller Anstieg von Phospholipiden

in der Plasmamembran soll möglicherweise die Ausbildung einer stabileren Plasmamembran bewirken (GROLLMAN et al., 1978; PFEFFER et al., 1979; PFEFFER et al., 1980a; CHANDRABOSE et al., 1981).

Sowohl eine Erhöhung des Ionentransportes als auch eine Erniedrigung des Nukleosidtransfers werden nach Anlagerung von Interferon an die Zielzelle beschrieben (GEWERT und CLEMENS, 1980). Infolge des Interferon-Zellkontaktes exprimiert die Zelle auf ihrer Zelloberfläche verstärkt verschiedene Histokompatibilitätsantigene. So berichteten LINDAHL et al. (1974) von einer vermehrten Expression von H2-Antigenen auf murinen T-Zellen, unabhängig vom Alter der Zellspender. Für Milzlymphozyten ließ sich dieses Ergebnis nur bei Zellen von jungen Mäusen wiederholen. Die Ausbildung des Theta-Antigens blieb auf T-Zellen und Milzlymphozyten durch die Inkubation mit murinem Interferon unbeeinflusst. WONG et al. (1983) stellten heraus, daß murines IFN- γ eine verstärkte Ausbildung von Ia- und H2-Antigenen auf Zellen einer murinen B-Zelllinie, Makrophagen und Zellen einer Myeloid-Zelllinie hervorruft. Histokompatibilitätsantigene sind z.B. die Voraussetzung für das Erkennen und die Auflösung virusinfizierter Zellen durch sensibilisierte T-Zellen (LINDAHL et al., 1972). WALLACH et al. (1982) stellten fest, daß IFN- γ in einer niedrigeren Konzentration (SONNENFELD et al., 1981) und schneller als IFN- α und IFN- β in der Lage ist, die Expression verschiedener Histokompatibilitätsantigene zu induzieren. Ferner ist Interferon für die Ausbildung von Rezeptoren für das Fc-Fragment von IgG auf der Oberfläche bestimmter Maus- und Human-Zellen verantwortlich (FRIDMAN et al., 1980). Fc-Rezeptoren für IgG befinden sich auf differenzierten murinen CTL (LECLERC et al., 1977), Maus- und Human-NK-Zellen (PETER et al., 1975; HERBERMAN et al., 1977), K-Zellen (PERLMAN et al., 1972) und Makrophagen (UNKELESS, 1977). Bezüglich der Lymphozyten ist die Expression von Rezeptoren für Fc-Fragmente von IgG essentiell für die durch K-Zellen vermittelte Zytotoxizität (HERBERMAN et al., 1979b). FRIDMAN et al. (1980) postulierten deshalb, daß die Expression der Fc-Rezeptoren eine wichtige Rolle bei der, das Immunsystem beeinflussenden Wirkung von

Interferon spielt. ITHO et al. (1980) bestätigten diese Ergebnisse und ergänzten, daß die Ausbildung von Fc-Rezeptoren für IgM auf Human-Lymphozyten durch Human-Interferon gehemmt wird.

2.2.7. Einfluß von Interferon auf das Immunsystem

Für die Wirkung von Interferon auf das Immunsystem wird oft der Begriff der Immunmodulation verwendet. Dieses ist durchaus zutreffend, da Interferon sowohl immunsuppressiv als auch abwehrsteigernd wirken kann. Immunkompetente körpereigene Zellen sind, wie viele andere Zellen auch, von dem schon beschriebenen antiproliferativen Effekt der Interferone betroffen. Dieses war eine der ersten nicht-antiviralen Eigenschaften von Interferon, die LINDAHL-MAGNUSSON et al. (1972) bei mit PHA aktivierten Lymphozyten feststellten.

Sowohl bei B-Zellen von Maus und Mensch als auch bei T-Zellen wurde nach Interferoneinwirkung eine reduzierte DNS-Synthese beschrieben (KIRCHNER und SPECHTER, 1982). Die Antikörperproduktion war währenddessen gehemmt (CHESTER et al., 1973; BRODEUR und MERIGAN, 1975), uneingeschränkt (STRANDER et al., 1973; JORDAN et al., 1974), oder gesteigert (KIRCHNER und SPECHTER, 1982).

Für die zellvermittelte Immunität gilt die allergische Spätreaktion (DTH) als ein Testparameter. Wird Mäusen 24 Stunden vor einer Sensibilisierung mit Schafer erythrozyten (SRBC) exogenes IFN- α und IFN- β verabreicht, so ist infolge davon die DTH bei den Tieren geschwächt bis vollständig unterdrückt. Zu einer Verstärkung der DTH kommt es, wenn das Interferon den Mäusen zum Zeitpunkt der Sensibilisierung mit SRBC oder auch danach appliziert wird (DE MAEYER et al., 1975; DE MAEYER-GUIGNARD et al., 1975; DE MAEYER und DE MAEYER-GUIGNARD, 1980; DE MAEYER und DE MAEYER-GUIGNARD, 1983). Die Zellen, die an der zellvermittelten Abwehr beteiligt sind, scheinen je nach Menge des auf sie einwirkenden Interferons unterschiedlich zu reagieren. So beobachteten IMANISHI et al. (1977) bei der Maus infolge hoher Gaben von Interferon eine verminderte Abwehr gegenüber Transplantaten. Gleichzeitig stellten dieselben Autoren bei nied-

rigen Interferongaben eine verstärkte Transplantatabstoßung fest.

Ein weiterer Parameter der zellvermittelten Immunität ist der Reaktionsverlauf in einer gemischten Lymphozytenkultur (MLC). Eine MLC-Reaktion wird durch Kontakt der Lymphozyten mit Interferon gehemmt (LINDAHL-MAGNUSSON et al., 1972). Dagegen vermuteten FARRAR et al. (1981) im Verlauf einer MLC stimulierende Eigenschaften, unter anderem vermittelt durch $\text{IFN-}\gamma$. Die Autoren stellten die Hypothese auf, daß die bei einer MLC aktivierten Makrophagen zur Produktion des Monokins IL1 angeregt werden. IL1 soll dann essentiell für eine Proliferation bestimmter T-Zellen sein, welche daraufhin in der Lage sind, das Lymphokin Interleukin 2 (IL2) zu synthetisieren. IL2 ist an der Stimulation weiterer T-Zellen beteiligt. Diese werden befähigt, $\text{IFN-}\gamma$ zu produzieren (KASAHARA et al., 1983). Im Anschluß daran wird $\text{IFN-}\gamma$ eine Rolle bei der Aktivierung zytotoxischer T-Zellen zugeschrieben. Die Regulation der Produktion von $\text{IFN-}\gamma$ soll somit über eine Interaktion von verschiedenen T-Zellpopulationen ablaufen (FARRAR et al., 1981).

Interferon wirkt auf die durch Fc-Rezeptoren vermittelte Phagozytose der Makrophagen aktivitätssteigernd (HUANG et al., 1971; HAMBURG et al., 1980; FERTSCH und VOGEL, 1984). KELSO et al. (1982) zeigten, daß Interferon und MAF (Macrophage activating factor) häufig zusammen von klonierten T-Zellen produziert werden. Die aktivierende Wirkung von Interferon auf Makrophagen ist ähnlich der durch MAF vermittelten (SCHULTZ et al., 1977). Ob es sich dabei um gleiche Faktoren handelt, ist noch nicht vollständig geklärt. So berichteten HAMANN und KRAMMER (1983), daß sie MAF und $\text{IFN-}\gamma$ aus den Überständen stimulierter T-Zellkulturen voneinander trennen konnten. Die Autoren schließen dennoch nicht aus, daß $\text{IFN-}\gamma$ allein zytotoxizitätssteigernd auf Makrophagen wirken kann. Untersuchungen von KALTMANN et al. (1983) und LOHMANN-MATTHES (1983) bestätigten dieses Ergebnis. Eine Erhöhung der unspezifischen Zytotoxizität durch Interferon wurde schon durch SVET-MOLDAVSKY et al. (1967) beschrieben. Erst später wurde dieser Effekt den NK-Zellen zugeordnet (GIDLUND et

al. 1978; HERBERMAN et al., 1979a). Andere Autoren vermuteten dabei weniger eine direkte Aktivitätssteigerung der NK-Zellen, als vielmehr die schnellere Heranreifung von NK-Zellvorstadien (TRINCHIERI et al., 1978; SAKSELA et al., 1979; SILVA et al., 1980). Da zu diesem Sachverhalt sich widersprechende Testergebnisse vorliegen (TIMONEN et al., 1980; KIRCHNER et al., 1983a), existiert möglicherweise ein anderer, noch unbekannter Weg der NK-Zellstimulation.

Als scheinbar paradoxe Wirkung von Interferon beschrieben WELSH et al. (1981) und TRINCHIERI et al. (1981), daß sowohl normale Fibroblasten, als auch Zellen einiger Tumoren bei Mensch und Maus in vitro und in vivo nach einer Inkubation mit Interferon ($\text{IFN-}\alpha$, $\text{IFN-}\beta$ und $\text{IFN-}\gamma$) vor einem NK-Zellangriff geschützt waren. Dabei kam es zwar zu einer Bindung von NK-Zellen und interferonbehandelten Zielzellen aber anschließend zu keiner Lysis dieser Zielzellen. Dieser durch Interferon induzierte Schutz war dosisabhängig, an eine intakte RNS- und Proteinsynthese der Zielzelle gebunden und hielt bis über eine Woche an. Dagegen konnten TRINCHIERI et al. (1981) und MUNOZ et al. (1983) bei virusinfizierten Zellen und den meisten von ihnen untersuchten Tumoren keinen solchen, durch Interferon induzierten Schutz feststellen. Beobachtungen dieser Art wurden weder für den Bereich der antikörperabhängigen zellvermittelten Zytotoxizität, noch für die komplementabhängige Lysis von Zellen gemacht. ORTALDO et al. (1980) und BORDEN et al. (1982) wiesen auch für K-Zellen einen durch Interferon hervorgerufenen, zytotoxizitätssteigernden Effekt nach.

Eine weitere Wirkung von Interferon stellt die Ausbildung eines antitumoralen Effektes dar (GRESSER et al., 1969). Dabei kommt es möglicherweise über den durch Interferon vermittelten Zytotoxizitätsanstieg zu einer Vernichtung der Tumorzellen (TOY, 1983). Die Art der Effektorzellen (NK-Zellen, K-Zellen oder andere zytotoxische Zellen), die in Verbindung mit Interferon und Tumorzellen eine gezielte zytotoxische Wirkung entfalten können, ist noch nicht geklärt (MOORE und WHITE, 1980).

2.3. Induktion einer Interferon-Produktion bei Protozoosenosen

Im Verlauf von einigen Protozoeninfektionen konnten verschiedene Autoren eine Interferon-Produktion beobachten.

So zeigte bei Mäusen eine Infektion mit *Trypanosoma cruzi* (T.cruzi) (RYTEL und MARSDEN, 1970; SONNENFELD und KIERSZENBAUM, 1981), *Trypanosoma equiperdum* (T.equip.) (TALAS und GLAZ, 1979), *Toxoplasma gondii* (RYTEL und JONES, 1966), *Plasmodium berghei* (HUANG et al., 1968) oder *Trypanosoma brucei* (T.brucei) (MARTINOTTI et al., 1981; BANCROFT et al., 1983) einen Interferon-Anstieg im Serum der Tiere. Eine Infektion mit *Plasmodium falciparum* beim Menschen bewirkte ebenfalls die Synthese von Interferon (OJO-AMAIZE et al., 1981; RÖNNBLOM et al., 1982).

Bei diesen Versuchen mit *Plasmodium falciparum* in Kulturen peripherer Human-Blutlymphozyten wurde nur bei extrazellulären, jedoch nicht bei intrazellulären Parasitenstadien eine Interferon-Produktion nachgewiesen. Dagegen konnten RYTEL et al. (1973) im Serum von Malaria oder T.cruzi infizierten Menschen keine Interferon-Aktivität feststellen. Als Grund dafür vermuteten RÖNNBLOM et al. (1982), daß das Auftreten von Interferon in vivo an bestimmte Entwicklungsstadien der Parasiten gebunden sei. OJO-AMAIZE et al. (1981) gaben in diesem Zusammenhang zu bedenken, daß sich RYTEL et al. (1973) hauptsächlich mit *Plasmodium vivax* Infektionen bei Erwachsenen beschäftigt hatten, wogegen sie selbst Infektionen mit *Plasmodium falciparum* bei Kindern untersucht haben.

Bei den verschiedenen Infektionen wurde festgestellt, daß bei Maus und Mensch, je nach Art des Parasiten, unterschiedliche Typen von Interferon produziert wurden. So wurde bei Infektionen mit T.cruzi (RYTEL und MARSDEN, 1970; KIERSZENBAUM und SONNENFELD, 1982) IFN- α , IFN- β und IFN- γ und bei T.equip. Infektionen (TALAS und GLAZ, 1979) IFN- α und IFN- β nachgewiesen. Bei Infektionen mit *Toxoplasma gondii* (RYTEL und JONES, 1966) und mit T.cruzi (RYTEL und MARSDEN, 1970) wurde der Typ des festgestellten Interferons nicht benannt, aber als pH2-labil beschrieben. Im Verlauf einer *Plasmodium berghei* Infektion wurde ein Interferon produziert, das sich als pH2-stabil auszeichnete (HUANG et al., 1968),

wogegen OJO-AMAIZE et al. (1984) bei in vitro und in vivo Versuchen mit Plasmodium berghei in der Maus den Anstieg der Produktion von IFN- γ ermittelten. Bei T.brucei Infektionen stellten BANCROFT et al. (1983) alle drei Typen von Interferon fest. IFN- α und IFN- β könnten nach Aussagen der Autoren eventuell von Kontaminationen der Parasitenpräparationen herrühren. Beim Menschen gelang OJO-AMAIZE et al. (1981) und RÖNNBLOM et al. (1982) bei einer Infektion mit Plasmodium falciparum der Nachweis von IFN- α . Die Charakterisierung der einzelnen Interferon-Typen wurde auf Grund ihrer physiko-chemischen Eigenschaften und/oder durch spezifische Interferon-Antisera durchgeführt.

Schon 24 bis 48 Stunden post infectionem (p.i.) ließ sich bei Infektionen der Maus mit T.cruzi (SONNENFELD und KIERSZENBAUM, 1981), T.equip. (TALAS und GLAZ, 1979), Toxoplasma gondii (RYTEL und JONES, 1966), Plasmodium berghei (HUANG et al., 1968) und einer in vitro Infektion peripherer Human-Blutlymphozyten mit Plasmodium falciparum (RÖNNBLOM et al., 1982) ein meßbarer Titer von Interferon nachweisen. Die frühe Produktion von Interferon korrelierte in diesen Fällen nicht mit den Parasitämien (RYTEL und JONES, 1966; HUANG et al., 1968; TALAS und GLAZ, 1979; SONNENFELD und KIERSZENBAUM, 1981). Bei einer Infektion mit T.brucei lag der erste Anstieg von Interferon im Serum der infizierten Mäuse nahe vor oder hinter der ersten Parasitämie, das heißt zwischen dem 4. und 6. Tag p.i. Auch im späteren Infektionsverlauf wurde eine ähnliche zeitliche Zusammenlagerung des Interferon-Anstiegs und der Parasitämien beobachtet. Nach jeder Absenkung der Parasitämien ging die Konzentration von Interferon auf geringe, bis teilweise nicht mehr meßbare Titer zurück (BANCROFT et al., 1983).

RYTEL und MARSDEN (1970) vermuteten bei T.cruzi Infektionen einen Zusammenhang zwischen der Generationszeit der Parasiten und der Induktion einer Interferon-Synthese. Eine kurze Generationszeit soll einen frühen Titeranstieg von Interferon bedingen.

Auch die Verlaufsform einer Infektion mit Protozoen kann einen Einfluß auf die Höhe der Interferon-Produktion haben. So induzierten T.brucei (BANCROFT et al., 1983) und T.cruzi (SONNENFELD

und KIERSZENBAUM, 1981), je nach Virulenz der einzelnen Stämme, verschieden hohe Titer von Interferon. Es scheinen also akute Verlaufsformen und hochvirulente Parasitenstämme einen schnellen und hohen Anstieg von Interferon zu bewirken. Zusätzlich induzierten dieselben Autoren mit 500 Trypanosomen pro Maus eine höhere Interferon-Produktion, als mit 10^4 Trypanosomen des gleichen Stammes pro Maus.

Die im Kapitel 2.4. ausgeführten Einzelheiten der Immunmodulation durch eine Infektion mit Trypanosomen, verglichen mit den immunologischen Eigenschaften der Interferone, lassen die Vermutung realistisch erscheinen, daß Interferon nicht direkt auf die Parasiten wirkt (SONNENFELD und KIERSZENBAUM, 1981; KIERSZENBAUM und SONNENFELD, 1982; BANCROFT et al., 1983), sondern indirekt über die Immunmodulation einen Effekt auf die Pathogenese ausübt (RÖNNBLUM et al., 1982). So ist durchaus denkbar, daß sich an die Induktion der Interferon-Produktion eine Aktivierung der zellvermittelten Immunantwort anschließt (HAMBURG et al., 1978; SAKSELA et al., 1979; RÖNNBLUM et al., 1982). Vermutlich besteht ein Zusammenhang zwischen der Interferon-Synthese und der NK- und K-Zellaktivität. So zeigten MAYOR-WITHEY et al. (1978) bei *T. brucei* Infektionen der Mäuse und EUGUI und ALLISON (1979, 1980) und OJO-AMAIZE et al. (1981) bei Malariainfektionen der Mäuse und Menschen eine erhöhte Konzentration von NK-Zellen. Bei einer *T. cruzi* Infektion der Maus wurde von KUHN et al. (1981) eine verstärkte NK-Zellaktivität beschrieben. Tumorzellen (TRINCHIERI et al., 1978; TIMONEN et al., 1980) und Herpes-simplex-Viren (PETER et al., 1980) aktivieren Null-Zellen, um diese zur Produktion von IFN- α und IFN- β zu veranlassen. Es ist somit nicht auszuschließen, daß auch bei den beschriebenen parasitären Infektionen ein Zusammenhang zwischen Null-Zellkonzentrationen bzw. Null-Zellaktivität und Interferon-Induktion besteht (BANCROFT et al., 1983). Im Verlauf einer Trypanosomeninfektion beim Rind wurde ein Anstieg der Konzentration von Null-Zellen festgestellt (AHMED et al., 1981; LABOHH, 1982). Dieses konnte STEUBER (1984) bei Ponys bestätigen. Einen Zusammenhang zwischen dem Konzentrationsanstieg der Null-Zellen und der Fähigkeit bestimmter Rinderrassen, die Trypano-

someninfektion zu tolerieren, besteht darin, daß die toleranten Rassen einen höheren Anstieg dieser Zellart aufweisen.

Ob es auch hier parallel dazu zu einer Synthese von Interferon kommt, ist noch nicht bewiesen.

2.4. Modulation des Immunsystems durch eine Infektion mit salivariischen Trypanosomen

Der verändernde Einfluß einer Trypanosomeninfektion erstreckt sich sowohl auf die humoralen, als auch auf die zellvermittelten Abwehrreaktionen des Parasitenwirtes (GOODWIN et al., 1972; GREENWOOD et al., 1973; URQUHART et al., 1973; HUDSON et al., 1976; SCOTT et al., 1977).

Von verschiedenen Autoren wird im Verlauf einer Trypanosomose eine verminderte Antikörperbildung gegen heterologe Antigene beschrieben. So zeigten SCOTT et al. (1977) bei *Trypanosoma congolense* (T.cong.) infizierten Zebu-Rindern nach einer Vakzination gegen Maul- und Klauenseuche und gegen Clostridien eine geschwächte Bildung von Antikörpern. SHIEN (1979) beobachtete im Verlauf einer chronischen Infektion mit *T.evansi* bei Ziegen nur einen geringen Anstieg der Antikörperproduktion als Antwort auf eine Vakzination mit einer *Brucella*-abortus Vakzine. Dieser Effekt war durch eine Behandlung mit Naganol^R wieder zu beheben. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen SOLLOD und FRANK (1979) durch die Applikation von Ovalbumin, Coli-Bakteriophagen und Parainfluenza-2-Viren bei Rindern, die vorher mit *T.cong.* infiziert worden waren. GOODWIN et al. (1972) und HUDSON et al. (1976) stellten bei *T.brucei* infizierten Mäusen und Kaninchen eine verminderte Bildung agglutinierender und hämolysierender Antikörper gegen Schaferythrozyten (SRBC) fest. LONGSTAFFE et al., (1973) berichteten, daß hauptsächlich die Bildung von IgG auf das thymusabhängige Antigen SRBC bei *T.brucei* infizierten Mäusen herabgesetzt war. Das bedeutet eine Störung der T-Zellfunktion, was von PEARSON et al. (1978) und WELLHAUSEN und MANSFIELD (1980) bei trypanosomeninfizierten Mäusen bestätigt werden konnte.

MURRAY et al. (1974b) stellten heraus, daß es bei Mäusen in der Anfangsphase einer T.brucei Infektion zu einem rapiden Anstieg der "IgM-plaque-forming-cells" kommt. Die Fähigkeit der Lymphozyten infizierter Mäuse, nach Stimulation mit Lipopolysaccharid (LPS) ^3H -Thymin einzubauen, wurde durch die Trypanosomeninfektion herabgesetzt (CORSINI et al., 1977).

Die verminderte Antikörperbildung gegen heterologe Antigene fällt von Tierart zu Tierart unterschiedlich stark aus. Man muß deshalb davon ausgehen, daß die obigen Untersuchungsergebnisse von vielen veränderlichen internen und externen Faktoren beeinflusst werden können. Es muß auch berücksichtigt werden, daß die Versuchstiere gegenüber Trypanosomen variierende Empfänglichkeiten besitzen und verschiedene Trypanosomenstämme unterschiedliche Pathogenitäten aufweisen können (MANSFIELD und BAGASRA, 1978; URQUHART, 1980).

Neben der Beeinflussung der humoralen Abwehr sind bei Infektionen mit salivariischen Trypanosomen auch Veränderungen der zellvermittelten Immunantwort beschrieben.

Um sich ein Bild vom Ausmaß der bei Trypanosomen beobachteten Immunsuppression zu machen, wurden in vivo Versuche mit der allergischen Spätreaktion (DTH) auf heterologe Antigene oder in vitro Versuche mit der Stimulierbarkeit von Lymphozyten Trypanosomen infizierter Tiere durch Mitogenedurchgeführt. Einen um das Tausendfache erhöhten Stimulus benötigten die T.brucei infizierten Mäuse, um eine entsprechend starke DTH auszubilden. Das bedeutet, daß die Infektion eine Modulation der DTH-Reaktion gegen SRBC induzierte, indem auf niedrige Dosen von SRBC, die bei nicht infizierten Tieren schon eine meßbare DTH hervorriefen, nicht reagiert werden konnte (AHMED et al., 1983). Dagegen berichteten ASKONAS et al. (1979), daß bei T.brucei infizierten Mäusen die Zellpopulationen, die für die DTH verantwortlich gemacht werden, während des ganzen Infektionsverlaufs in ihrer Funktion unbeeinflusst gewesen sein sollen.

Auf die Stimulierbarkeit der Lymphozyten ließ sich ebenfalls ein Einfluß der Infektion mit Trypanosomen feststellen. So berichteten SOLLÖD und FRANK (1979) und MUSOKE et al. (1981) beim Rind, und MANSFIELD und WALLACE (1974), CORSINI et al. (1977),

JAYAWARDENA und WAKSMAN (1977) bei Labornagern von einer deutlichen Herabsetzung der in vitro proliferativen Antwort auf PHA, ConA (beides T-Zellmitogene), PWM (B- und T-Zellmitogen) und LPS (B-Zellmitogen). Diese Ergebnisse konnten von DIESING (1981) und DIESING et al. (1983) für Ziegen und LONGSTAFFE und TERRY (1982) für Meerschweinchen nicht vollständig bestätigt werden. Vielmehr zeigte sich bei einigen Tieren besonders im Endstadium der T.brucei Infektion ein kaum veränderter Lymphozytenstimulationsindex durch PHA (LONGSTAFFE und TERRY, 1982) oder PWM (DIESING, 1981; DIESING et al., 1983).

Zahlreiche Autoren haben den Versuch unternommen, die Mechanismen der Immunsuppression zu erklären. Dabei sind sie zu unterschiedlichen Ergebnissen gekommen:

1. So können möglicherweise mitogenähnliche Trypanosomenprodukte eine polyklonale Aktivierung der Lymphozyten bewirken. DIAMANTSTEIN et al. (1976) stellten fest, daß bestimmte Mitogene eine polyklonale Aktivierung der B-Zellen induzieren und somit eine suppressive Wirkung erreicht wurde. Ein starker Anstieg unspezifischer IgM wurde als Beweis für die polyklonale Aktivierung der B-Zellen angeführt (URQUHART et al., 1973; HUDSON et al., 1976; ASSOKU et al., 1977; KOBAYAKAWA et al., 1979). Der mitogene Effekt ist in vitro allerdings noch nicht eindeutig bewiesen (HUDSON und TERRY, 1979; MUSOKE et al., 1981).
2. Andererseits wird die verstärkte Phagozytoseaktivität der Makrophagen als Ursache für das Phänomen der Immunsuppression verantwortlich gemacht (GREENWOOD et al., 1971; COULIS et al., 1978; AHMED et al., 1983). Wahrscheinlich können die aktivierten Makrophagen ihre Funktion als antigenpräsentierende Zellen nicht mehr ausüben.
3. Als eine weitere mögliche Erklärung einer unspezifischen Unterdrückung der Immunantwort im Verlauf einer Trypanosomeninfektion steht die Antigenkonkurrenz zur Diskussion. So stellten JONES et al. (1976) in vitro und in vivo bei Mäusen mit Infektionen mit *Trichinella spiralis* und NANTULYA et al. (1982) bei trypanosomeninfizierten Rindern die Antigenkonkurrenz als zentralen Mechanismus der Immunsuppression her-

aus. Dagegen wiesen EARDLEY und JAYAWARDENA (1977) nach, daß Milzzellen trypanosomeninfizierter Mäuse trotz geringer antigenen Belastung nur eine schwache Immunantwort auf SRBC entwickelten.

4. JAYAWARDENA und WAKSMAN (1977) kamen zu dem Ergebnis, daß im Verlauf einer Trypanosomeninfektion bei der Maus unspezifische Suppressorzellen aktiv wurden, welche dann auf die Immunantwort gegenüber heterologen Antigenen einen negativen Einfluß hatten.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1. Material und Methoden

Die für den Interferon-Nachweis benötigten Zellkulturen wurden von der Firma Flow Laboratories GmbH (Meckenheim) bezogen. Bei den Zellen handelte es sich um equine Dermalfibroblasten einer vierjährigen Stute. Sie besaßen eine Teilungsrate von 1:2 und sollten unter anderem gegenüber Vesikulärem-Stomatitis-Virus (VSV) eine Empfindlichkeit aufweisen. Bei der Anlieferung befanden sich die Zellen auf dem Stand der 24. Passage.

Die auf Interferon-Aktivität zu testenden Serumproben stammten aus einem Versuch mit einer experimentellen T.evansi Infektion bei Ponys (STEUBER, 1984). Es handelte sich bei den Versuchstieren um vier Shetlandponys mit folgenden individuellen Daten:

Tier-Nr.	Alter (in Jahren)	Geschlecht	Gewicht (in KG)
2	1	männlich	82
4	2	männlich	55
7	11	männlich	231
8	7	weiblich	222

Den Tieren wurde einmal vor und wöchentlich dreimal während des Infektionsverlaufs 10 ml Blut aus der Vena jugularis entnommen. Aus diesen Blutproben wurde sofort mit Hilfe der Hämatokrit-Zentrifugen-Technik (WOO, 1969) und mittels einer Neubauer-Zählkammer die Anzahl der Parasiten im Blut bestimmt und anschließend durch Sedimentation der Blutproben Serum isoliert. Hierzu mußten die Proben eine Stunde bei Zimmertemperatur sedimentieren und wurden danach für zwölf Stunden in einen Kühlschrank (4°C) verbracht. In den ersten Stunden mußten die sich bildenden Blutkoagula von den Gefäßwänden gelöst werden, um somit ein ungestörtes Zusammenfließen des Serums zu gewährleisten. Nach Ablauf der Sedimentationszeit wurden die Proben mit 500 x g bei 4°C für 10 Minuten zentrifugiert, die Überstände mit Pasteurpipetten separiert, dann zur Inaktivierung eine halbe Stun-

de im Wasserbad auf 56°C erwärmt, portioniert und abschließend bis zum Interferon-Nachweis bei -28°C eingefroren.

Als Infektionsmaterial der Ponys diente ein Klon von Trypanosoma evansi, JAVA/55/PTV/1/Stock 1/Clon 5 (STEUER, 1984). Der Klon war in drei Tagespassagen auf bestrahlten Mäusen passagiert und in flüssigem Stickstoff aufbewahrt worden.

Vor der Infektion der Ponys wurde eine stark parasitämische NMRI-Maus durch Herzpunktion entblutet, das so gewonnene, mit 10 IE Heparin (Liquemin 25000^R, Fa. Hoffmann-LaRoche, Grenzach-Wylen) heparinisierte Blut mit einem Phosphat-Saline-Glukose Puffer (PGS) auf eine Konzentration von 1×10^6 Trypanosomen pro Milliliter verdünnt und mit 10 Typanosomen pro Gramm Körpergewicht den Tieren intravenös verabreicht.

Der verwendete PSG-Puffer wies folgende Zusammensetzung auf: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$ (16,90 g), $\text{Na H}_2\text{PO}_4 \times 2 \text{ H}_2\text{O}$ (0,78 g), NaCl (4,25 g), Aqua dest. ad 1000 ml; den Puffer mit einer 2,5-prozentigen Glukoselösung im Verhältnis 6:4 mischen.

Für die Infektion equiner Dermalfibroblasten zum Interferon-Nachweis bedurfte es der Vermehrung und Kultivierung der Fibroblasten. Die Zellkulturen lagen bei der Anlieferung als ein elf Tage alter, einschichtiger und geschlossener Zellrasen vor. Zur weiteren Vermehrung wurde das Kulturmedium aus der Kulturflasche (Fa. Costar) entfernt und 3 ml Trypsin/EDTA (0.5 %/0,2 %) (Fa. Biochrom, Berlin) auf den Zellrasen verbracht. Die verschlossene Kulturflasche wurde für 15 Minuten bei 37°C und 5 % CO_2 -Atmosphäre in einem Brutschrank (Fa. Heraeus Christ, Osterode) bebrütet. Die beste Trennung der Zellen war erreicht, wenn sie eine rundliche Form angenommen hatten und sich im Trypsin frei bewegten (Kontrolle unter dem Mikroskop mit einer Vergrößerung von $8 \times 2,5$). Anschließend wurde die Trypsin-Zell-Suspension mit 10 ml Kulturmedium verdünnt und damit gleichzeitig das Trypsin inaktiviert (MOCHIZUKI et al., 1980).

(Kulturmedium: 1640-RPMI Medium mit Zusätzen von 2 mM l-Glutamin, 100 IE/ml Penicillin, 100 µg/ml Streptomycin, 10 % foetales Kälberserum (FCS) und 1% nichtessentielle Aminosäuren

(Fa. Biochrom, Berlin)). Die so trypsinierten Fibroblasten wurden in ein Zentrifugenröhrchen überführt und abschließend mit $200 \times g$ bei 4°C für 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde dekantiert, und das verbleibende Zentrifugat mit 3 ml Kulturmedium resuspendiert. Je 1 ml Zellsuspension diente für einen neuen Kulturansatz als Stammkultur und wurde mit 15 ml Kulturmedium in jeweils neuen Zellkulturflaschen ($80 \text{ cm}^2/260 \text{ ml}$, Fa. Nunc GmbH, Wiesbaden) im Brutschrank bis zur Konfluenz inkubiert. Die Verschlußdeckel der Kulturflaschen waren während des Aufenthaltes im Brutschrank auf eine ventilierende Position gestellt, so daß ein Gasaustausch ermöglicht war. Dieser Kultivierungsprozess wurde solange wiederholt, bis eine ausreichende Anzahl von Stammkulturen als Vorrat zur Verfügung stand. Die letzten verwendeten Zellkulturen befanden sich auf dem Stand der 30. Passage.

Für die weitere Kultivierung der equinen Dermalfibroblasten in flachbodigen 96-Loch MikroWell Platten (Fa. Nunc GmbH, Wiesbaden) wurden die durch Trypsinierung gewonnenen Stammkulturen 10 Minuten zentrifugiert ($200 \times g$ bei 4°C), das Zentrifugat mit 1 ml Kulturmedium resuspendiert, mit einem Hämozytometer nach Neubauer ausgezählt und auf eine Zellkonzentration von 1×10^6 Zellen pro Milliliter Kulturmedium verdünnt. Mit einer Endkonzentration von 1×10^5 Zellen pro Milliliter Medium erfolgte dann mit Hilfe einer $100 \mu\text{l}$ -Acht-Kanal-Pipette (Fa. Flow Laboratories GmbH, Meckenheim) die Aussaat der so vorbereiteten Dermalfibroblasten in die MikroWell Platten mit $100 \mu\text{l}$ Zellsuspension pro Plattenloch. Anschließend wurden die mit einem Deckel geschlossenen Platten unter schon beschriebenen Bedingungen im Brutschrank bis zur Konfluenz 48 Stunden lang inkubiert und standen dann für den Interferon-Nachweis zur Verfügung.

Für den Nachweis von Interferon wurde die Semimikrotitrationsmethode (HO und ENDERS, 1959; STEWART II, 1979; YILMA et al., 1982) gewählt. Alle beschriebenen Arbeiten erfolgten in einem Laminar-Air-Flow (Fa. Flow Laboratories GmbH, Meckenheim) unter sterilen Bedingungen.

Zuerst mußte bei den 48 Stunden alten, in MikroWell Platten vorbereiteten, konfluenten Fibroblasten-Monolayern ein Mediumwechsel durchgeführt werden.

Für den weiteren Versuchsaufbau wurden die MikroWell Platten in zwei Felder von je 6 x 8 Löchern aufgeteilt. Damit war es möglich, acht Serumproben (A_1 bis H_1) und gleichzeitig ihre Duplikate (A_7 bis H_7) zu untersuchen. Anschließend wurden in die Plattenlöcher A_1 und A_7 bis H_1 und H_7 50 μ l der acht auf Interferon zu testenden Serumproben pipettiert und im folgenden aus der nun vorliegenden Verdünnung von 1:3 eine Verdünnungsreihe über 5 Schritte bis zur Verdünnungsstufe 1:729 angelegt. Dafür wurde aus den Löchern A_1 bis H_1 , in welchen nun je 100 μ l Kulturmedium und 50 μ l Serumprobe gemischt vorlagen, mit einer 50 μ l Acht-Kanal-Pipette (Fa. Flow Laboratories GmbH, Meckenheim) pro Loch 50 μ l entnommen und in die Löcher A_2 bis H_2 überführt. Mittels dieser Pipette konnten die acht verschiedenen Serumproben in einem Arbeitsgang titriert werden. Diese Verdünnungstechnik wurde bis zu den Löchern A_6 bis H_6 fortgeführt, und die letzten entnommenen 50 μ l der Löcher A_6 bis H_6 verworfen. Nach einem Wechsel der Pipettenspitzen wurde dieser Verdünnungsvorgang für die Duplikate der Serumproben in den Löchern A_7 bis H_7 wiederholt. Daran schloß sich ein erneuter Aufenthalt der bedeckten MikroWell Platten im Brutschrank an. Die Inkubation endete nach 48 Stunden mit der Entfernung des serumhaltigen Kulturmediums aus den MikroWell Platten.

Um die Effektivität der antiviralen Wirkung von Interferon in den Serumproben beurteilen zu können, wurden die nun trockengelegten Fibroblastenkulturen in den MikroWell Platten mit einer einprozentigen VSV-Kulturmediummischung mit 100 μ l pro Loch versehen (VSV-Stammlösung wurde in der 11. Passage mit ca. 10^7 PFU/ml von Prof.Dr.H.Kirchner, Institut für Virusforschung, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg zur Verfügung gestellt). Nach wiederum zweitägiger Bebrütung wurde die VSV-Mediummischung aus den MikroWell Platten entfernt, die Platten für 10 Minuten in einprozentigem Formalin fixiert, intensiv mit Wasser gewaschen, mit dreiprozentigem Kristallviolett (Fa. Bayer, Leverkusen) für 10 Minuten gefärbt, erneut mit Wasser ge-

waschen und schließlich bei Zimmertemperatur getrocknet. Gegen einen hellen Hintergrund ließ sich dann das Versuchsergebnis wie folgt ablesen. Die Interferon-Einheiten pro 50 µl Serumprobe wurden als das Reziproke derjenigen Verdünnungsstufe angegeben, bei der der zytopathogene Effekt des Testvirus (VSV) auf die equinen Dermalfibroblasten, verglichen mit unbehandelten Kontrollkulturen, durch Interferon um 50 % reduziert waren. Lag dieser Punkt nicht genau bei einer direkt ablesbaren Verdünnungsstufe, so wurde das Ergebnis nach der Methode von REED und MUENCH (1938) durch Interpolation ermittelt und in Labor-einheiten Interferon (LE) ausgedrückt (LANDOLFO et al., 1982).

Für die Charakterisierung von equinem Interferon werden im Handel keine spezifischen Antiseren angeboten. Aus diesem Grund wurden zur Identifikation der im Serum gefundenen, antiviral wirkenden Substanz deren physiko-chemische Eigenschaften auf interferontypische Merkmale überprüft. Alle Manipulationen mit den Serumproben geschahen soweit wie möglich unter sterilen Bedingungen.

Zum Sedimentationsversuch mittels Ultrazentrifugation kamen Serumproben mit hoher antiviraler Wirksamkeit zur Anwendung. So wurden jeweils zwei Serumproben der Ponys Nr.2 und Nr.7 und vier Serumproben von Pony Nr.8 über 4 Stunden bei 50400 x g und 4°C (TORLONE et al., 1965) zentrifugiert (Model J2-21 Centrifuge, Fa. Beckmann Instruments S.A., München), die danach angefallenen Überstände portioniert und bis zur Durchführung aller weiteren Tests bei 4°C aufbewahrt.

Als enzymatische Tests wurden die Inkubationen der ultrazentrifugierten Serumproben mit Ribonuklease A (RNase) (Fa. Serva Feinbiochemica, Heidelberg), Desoxyribonuklease I (DNase) (Fa. Boehringer Mannheim GmbH) und Trypsin/EDTA (0,5 %/0,2 %) durchgeführt. Bis auf Trypsin lagen alle Enzyme in lyophilisierter Form vor und wurden für jeden Versuch frisch mit Aqua ad inj. aufgelöst und auf die folgenden Konzentrationen verdünnt. Die RNase wurde in einer Konzentration von 1 mg/ml Serum für eine Stunde bei 37°C (MARCUCCI et al., 1981), die DNase mit 100 µg/ml Serum für zwei Stunden bei 37°C (KIERSZENBAUM und SONNENFELD, 1982) im Wasser-

bad inkubiert.

Des weiteren sollten die ultrazentrifugierten Serumproben auf ihre Säureempfindlichkeit geprüft werden. Dafür wurden je 1 ml ultrazentrifugierter Serumproben in jeweils vorher für 10 Minuten in Aqua dest. eingeweichten Dialyseschläuchen (Fa. Visking^R-Standardschläuche (8/32, 6 mm Ø x 5 m, Fa. Serva Feinbiochemica, Heidelberg) für 24 Stunden bei 4°C in einem 0,2 M HCl-KCl Puffer (pH2) aufbewahrt (ASH und BUBEL, 1966) und anschließend für weitere 24 Stunden in PBS (pH7,2) bei 4°C gelagert.

Der verwendete PBS-Puffer (Phosphate Buffered Saline) wies folgende Zusammensetzung auf: NaCl (8,00 g), KCl (0,20 g), Na₂HPO₄ (1,15 g), KH₂PO₄ (0,20 g), Aqua dest. ad 1000 ml.

Nach Beendigung der physiko-chemischen Tests wurden die einzelnen Serumproben in ihren Reaktionsgefäßen bei 500 x g und 4°C für 15 Minuten zentrifugiert und die Überstände bis zum Interferon-Nachweis bei 4°C aufbewahrt.

Zur weiteren Charakterisierung des Interferons sollte der direkte Einfluß des Serums auf Viren (VSV) überprüft werden. Hierzu wurden 500 µl einer stark antiviral wirkenden Serumprobe von Pony Nr.8 mit 200 µl unverdünnter VSV-Stammlösung (ca. 10⁷ PFU/ml) für 30 Minuten bei 37°C inkubiert (HUANG et al., 1968). Im Anschluß daran wurde der Serum-VSV-Ansatz mit 500 x g bei 4°C für 10 Minuten zentrifugiert, der Überstand mit 100 µl pro Loch auf eine vorbereitete MikroWell Platte mit konfluenten equinen Dermalfibroblasten überführt, 48 Stunden bei 37°C bebrütet, dann analog der Beschreibung der Semimikrotitrationsmethode gefärbt und anschließend beurteilt.

Um einen Wachstumseinfluß auf die Testfibroblasten durch die hitzeinaktivierten Seren auszuschließen, wurde eine mit den Fibroblasten konfluent gewachsene MikroWell Platte nach Mediumwechsel zur einen Hälfte mit einer verdünnten Serumprobe von Pony Nr.8 (100 µl Serum plus 100 µl Nährmedium pro Loch) und zur anderen Hälfte nur mit 200 µl Nährmedium versehen. Nach Inkubation über 48 Stunden wurde die Platte gefärbt und ausgewertet.

3.2. Ergebnisse

3.2.1. Parasitologischer Verlauf einer experimentellen Trypanosoma evansi Infektion des Ponys

Der Nachweis von Trypanosomen im zirkulierenden Blut erbrachte bei allen infizierten Ponys erst am 3. bis 4. Tag p.i. mit der Hämatokrit-Zentrifugentechnik (HCT) ein positives Ergebnis. Nach dem ersten Anstieg der Parasitämien zwischen dem 4. und 6. Tag p.i. mit $1,25 \times 10^5$ bis $3,4 \times 10^7$ Trypanosomen pro Milliliter Blut (Tryp/ml) schlossen sich bei allen Tieren bis zum 37. Tag p.i. vier weitere deutliche Parasitämie Gipfel an. Nur Pony Nr.2 wies im Terminalstadium am 52. Tag p.i. einen sechsten Parasitämieschub auf.

Bei den Ponys Nr.4 und 8 erstreckten sich die ermittelten Parasitämie Gipfel über zwei bis acht Tage. Bei Pony Nr.4 wurden in der Zeitspanne vom 21. bis zum 33. Tag p.i. und bei Pony Nr.8 für die letzten drei Parasitämien (18. bis 37. Tag p.i.) zweigipfelige Parasitämien beobachtet. Die höchsten Parasitenkonzentrationen im Blut beliefen sich bei Pony Nr.4 auf $2,9 \times 10^7$ Tryp/ml und bei Pony Nr.8 auf $3,2 \times 10^7$ Tryp/ml.

Die einzelnen Parasitämien der Ponys Nr.2 und 7 stellten sich ein-, zwei- oder dreigipfelig dar und dauerten von zwei bis hin zu elf Tagen. Die Parasitenkonzentrationen erreichten bei Pony Nr.2 5×10^7 Tryp/ml und bei Pony Nr.7 $2,2 \times 10^7$ Tryp/ml. Ab dem 34. bzw. 41. Tag p.i. waren bei den beiden zuletzt genannten Tieren nur noch geringe bis kaum mehr auszählbare Parasiten im Blut nachweisbar.

Zwischen dem 34. und 56. Tag p.i. verendeten die Tiere oder mußten in Agonie getötet werden.

In den Abbildungen 1, 2, 3, und 4 sind die durch die HCT und die mikroskopische Auszählung ermittelten Parasitämieverläufe der einzelnen Versuchstiere dargestellt.

3.2.2. Nachweis einer antiviral wirksamen Substanz (Interferon) mit der Semimikrotitrationsmethode

Bei diesem Nachweisverfahren auf Interferon-Aktivität wurden die hitzeinaktivierten und bei -28°C eingefrorenen Testseren der infizierten Tiere im Wasserbad (37°C) über 48 Stunden mit vorher konfluent gewachsenen equinen Dermalfibroblasten-Kulturen inkubiert. Ein sich infolge dieser Behandlung ausbildender antiviraler Schutz der Fibroblasten-Kulturen gegenüber einer anschließend durchgeführten VSV-Infektion drückte sich in einer verminderten zytopathischen Wirkung der Viren aus. Die quantitative Bewertung erfolgte nach abschließender Anfärbung des Fibroblasten-Zellrasens durch Gegenüberstellung der Anfärbbarkeit serum- und virusbehandelter Fibroblasten-Kulturen und unbehandelter bzw. nur virusbehandelter Kontrollkulturen. Eine Laboreinheit (LE) der antiviral wirksamen Substanz war im Serum enthalten, wenn die serum- und virusbehandelten Zellkulturen eine um 50 % reduzierte Anfärbbarkeit der Kontrollen aufwiesen.

Bei allen nachfolgend aufgeführten antiviralen Aktivitäten in LE wurden nur die jeweiligen, in den Tabellen 1-4 genannten Mittelwerte verwendet.

Mit den Serumproben der Ponys Nr.4 und 7 ließ sich erst am 6. bzw. 7. Tag p.i. die Ausbildung eines antiviralen Schutzes der Dermalfibroblasten-Kulturen induzieren (Abb.2, 3; Tab.2, 3). Dagegen zeigten die Seren der Ponys Nr.2 und 8 schon am 3. Tag p.i. 5,25 bzw. 1,00 LE einer antiviral wirkenden Substanz (Abb.1, 4; Tab.1, 4).

Bei Pony Nr.2 setzte sich der schon früh einsetzende Anstieg der antiviralen Wirkung bis zum 7. Tag p.i. (12,50 LE) fort und erreichte nach einem leichten Rückgang am 10. Tag p.i. (11,00 LE) sein Maximum am 17. Tag p.i. mit 26,25 LE. Im Anschluß daran sank der Interferon-Gehalt im Serum bis zum 27. Tag p.i. nahezu kontinuierlich bis auf 15,16 LE, um dann, nach kurzem Anstieg auf 16,66 LE (29. Tag p.i.), bis zum 35. Tag p.i. auf 7,00 LE zu fallen. In der Zeitspanne zwischen dem 35. Tag p.i. und dem Tag der letzten Serumgewinnung kurz vor dem Exitus des

Tieres (52. Tag p.i.) schwankten die Konzentrationen der antiviralen Substanz im Serum um den Wert von 7,70 LE (Abb.1; Tab.1). Tab.1).

Pony Nr.4 wies erst am 6. Tag p.i. einen meßbaren Interferon-Gehalt von 3,50 LE im Serum auf. Nach einem geringen Aktivitätsrückgang am 7. Tag p.i. (2,50 LE) erreichte die antiviral wirkende Substanz nach kontinuierlichem Anstieg am 17. Tag p.i. ihre Maximalkonzentration (27,25 LE) im Serum des Tieres. Bis zum 24. Tag p.i. folgte dann eine starke Abnahme des Interferon-Gehaltes im Serum bis auf 3,00 LE. Allerdings stieg die antivirale Aktivität zum letzten Tag der Blutentnahme (34. Tag p.i.) erneut auf den Wert von 13,50 LE an (Abb.2; Tab.2).

Pony Nr.7 zeigte die erste antivirale Aktivität (1,50 LE) in der Serumprobe vom 7. Tag p.i. Danach stieg der Interferon-Gehalt am 10. Tag p.i. auf 7,90 LE, um dann nach kurzem Absinken auf 3,56 LE (13. Tag p.i.) sein erstes Maximum von 16,50 LE am 15. Tag p.i. zu erreichen. Zwischen dem 15. und 31. Tag p.i. war ein unregelmäßiger Verlauf des Serum-Interferon-Spiegels zu verzeichnen. Nach dem Anstieg auf 16,50 LE am 15. Tag p.i. sank die Interferon-Aktivität zwischenzeitlich auf 11,50 LE (17. Tag p.i.), um dann am 20. und 22. Tag p.i. wieder 16,00 LE zu erreichen. Vom 24. Tag p.i. an kam es zu einem Absinken auf 7,00 LE und auf 5,40 LE am 31. Tag p.i. bei einem zwischenzeitlichen Aktivitätsanstieg von 11,00 LE am 27. Tag p.i. Bis zum 35. Tag p.i. blieb der Interferon-Gehalt auf dem Niveau von 5,40 LE, stieg zum 43. Tag p.i. auf 24,50 LE an und senkte sich wieder bis zur Entnahme der letzten Serumprobe (56. Tag p.i.) auf 9,00 LE (Abb.3; Tab.3).

Die Serumproben von Pony Nr.8 erreichten vom 3. bis zum 22. Tag p.i. Werte von 9,00 LE, um bis zum 29. Tag p.i. auf einen Spiegel von 27,00 LE anzusteigen. Dieser Meßwert sank zum 33. Tag p.i. auf 13,50 LE ab, um plötzlich am 34. Tag p.i. wieder 21,00 LE zu erreichen. Die letzte gemessene Serumprobe von Pony Nr.8 (36. Tag p.i.) enthielt noch 20,00 LE (Abb.4; Tab.4).

Legende zu den Abbildungen 1 - 4:

Tryp. : Anzahl der Trypanosomen im Jugularblut
($\log_{10}$ /ml Blut, ab $1,25 \times 10^5$ /ml)

HCT : Semiquantitativer Nachweis der Trypanosomen mit der
Hämatokrit-Zentrifugen-Technik nach WOO (1969).
Trypanosomen pro Hämatokritkappilare bei Verwendung
einer Vergrößerung von 8 x 25:

 = a 1 - 10 Trypanosomen

 = b 10 - 50 Trypanosomen

 = c nicht mehr zählbar

 = d in Klumpen oder dicker Schicht

LE : Laboreinheiten der antiviral wirksamen Substanz (Interferon)

Abb.1: Pony 2
Legende Seite 34

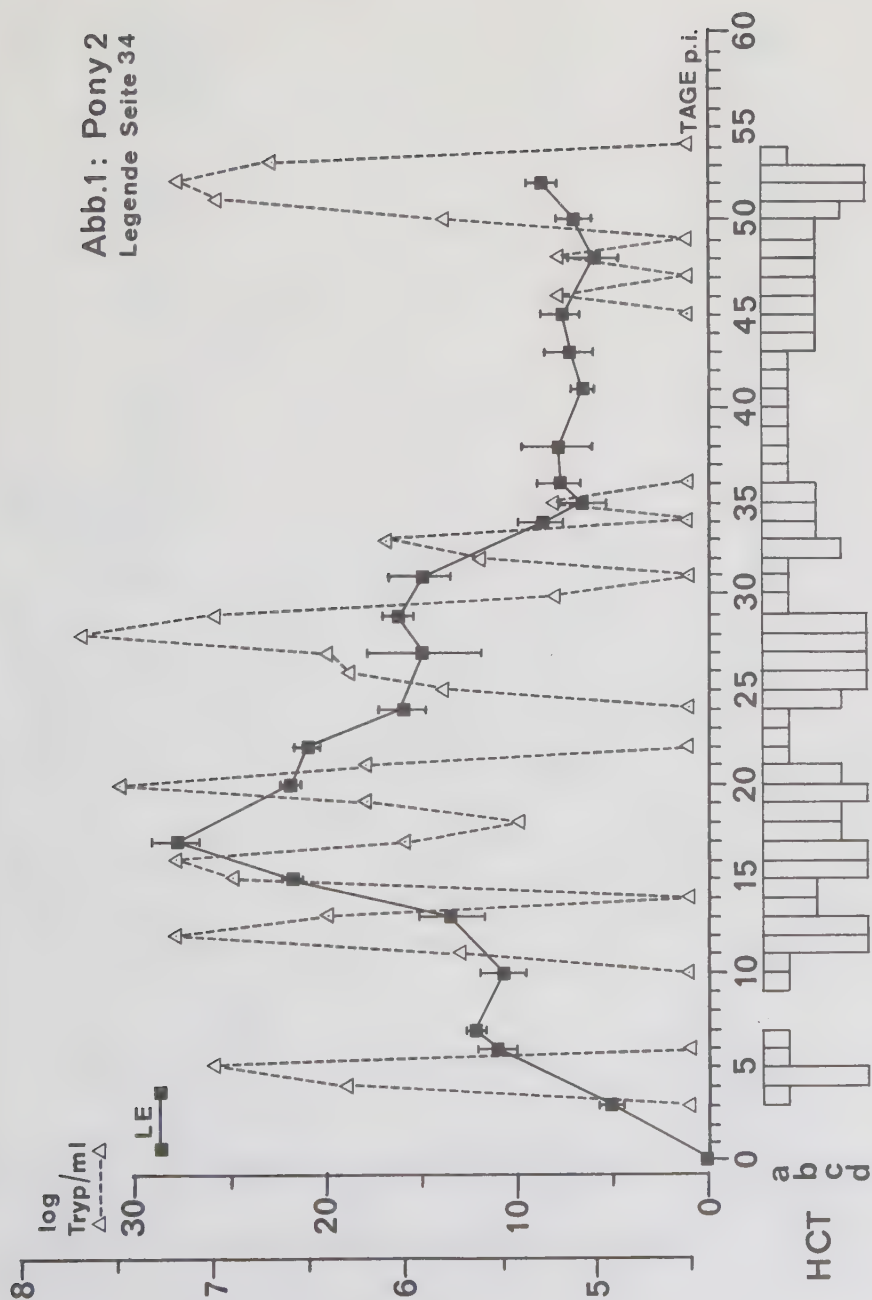


Abb.2: Pony4
Legende Seite 34

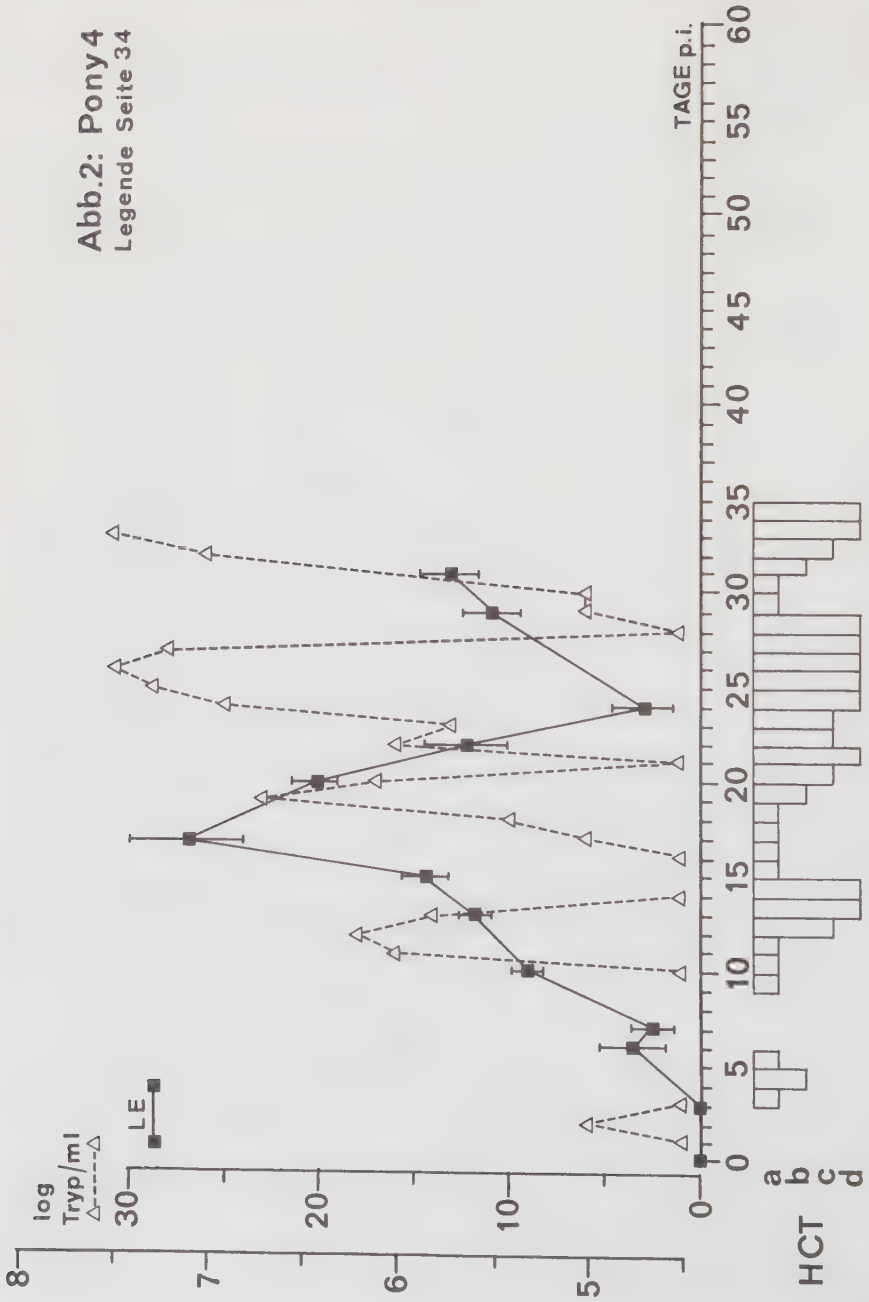


Abb.3: Pony 7
Legende Seite 34

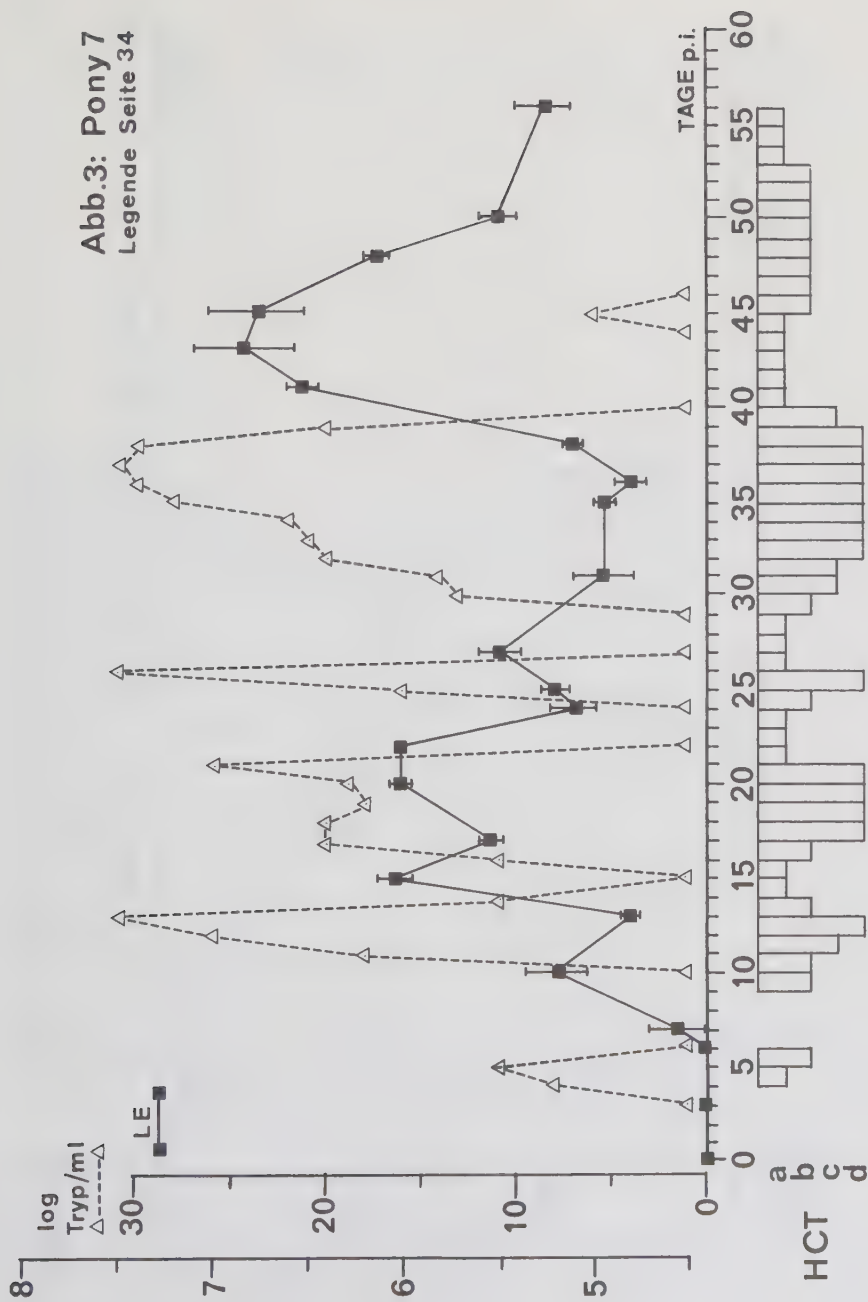
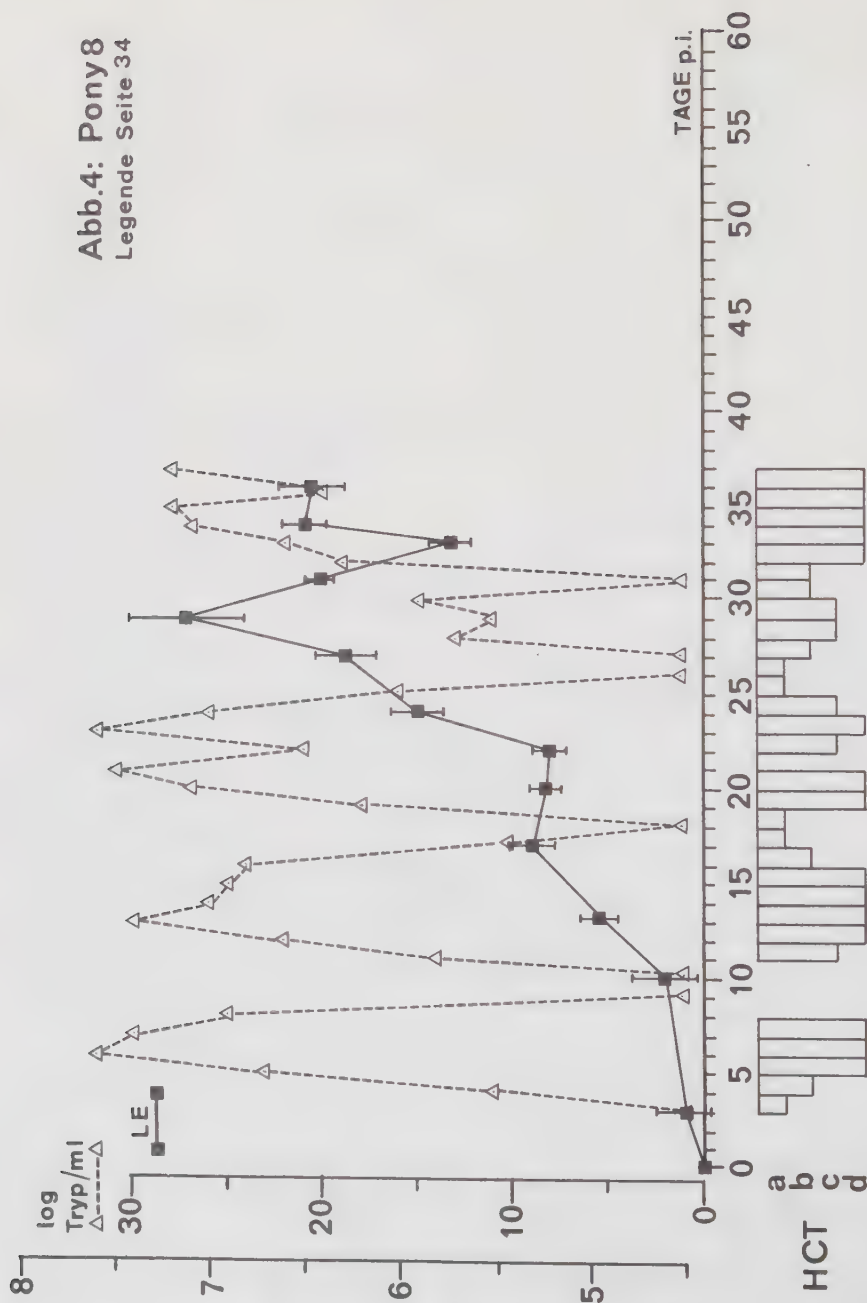


Abb.4: Pony8
Legende Seite 34



Tage p.i.	Interferon-Meßwerte (LE)						$\bar{x}$	s
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00
3	4,5	4,5	5,0	6,0	6,0	5,5	5,25	0,62
6	11,5	11,5	12,0	11,5	12,0	9,0	11,25	1,03
7	12,0	12,5	13,0	13,0	12,5	12,0	12,50	0,40
10	9,0	10,5	10,5	12,5	11,5	12,0	11,00	1,15
13	13,5	10,5	14,0	15,5	15,5	14,0	13,83	1,67
15	22,5	21,5	22,5	21,5	22,5	22,5	22,16	0,47
17	27,0	27,0	22,5	27,0	27,0	27,0	26,25	1,67
20	22,5	21,5	21,5	22,5	22,5	22,5	22,16	0,47
22	20,5	21,5	21,5	21,5	21,5	22,5	21,50	0,57
24	14,5	18,0	16,0	15,5	17,5	16,0	16,25	1,18
27	10,5	15,5	20,5	14,5	16,0	14,0	15,16	2,96
29	18,0	17,5	16,0	15,5	16,5	16,5	16,66	0,84
31	13,0	18,0	15,5	14,0	16,0	16,5	15,50	1,63
34	7,5	9,0	7,5	9,0	10,5	10,5	9,00	1,22
35	5,0	7,5	6,0	6,5	7,5	9,0	6,91	1,27
36	7,5	9,0	7,5	9,0	6,0	9,0	8,00	1,11
38	10,5	6,0	9,0	5,5	9,0	9,0	8,16	1,79
41	7,5	7,5	6,8	6,0	6,8	7,2	6,96	0,51
43	7,5	9,0	7,0	5,0	9,0	7,5	7,50	1,35
45	9,0	6,5	7,5	9,0	9,0	7,5	8,08	0,97
48	4,5	4,5	7,5	6,5	7,0	7,5	6,25	1,28
50	9,0	7,5	6,0	7,0	6,5	7,5	7,25	0,94
52	10,5	9,0	9,0	7,5	9,0	9,0	9,00	0,86

Tabelle 1: Interferon-Aktivität (LE) der hitzeinaktivierten (56°C für 1/2 Stunde) Serumproben eines T.evansi infizierten Ponys (Nr.2) ermittelt mit der Semimikrotitrationsmethode
 $\bar{x}$: Mittelwert
s : Standardabweichung

Tage p.i.	Interferon-Meßwerte (LE)						$\bar{x}$	s
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00
3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00
6	0,0	5,0	5,0	4,0	3,5	3,5	3,50	1,68
7	0,0	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0	2,50	1,11
10	7,5	10,5	9,0	9,0	9,0	9,0	9,00	0,86
13	12,5	12,0	10,5	11,5	13,0	12,0	11,91	0,78
15	15,5	13,0	15,5	13,0	14,5	15,5	14,50	1,11
17	27,0	33,0	27,0	22,5	27,0	27,0	27,25	3,05
20	22,0	19,5	20,5	20,5	18,0	21,5	20,33	1,31
22	10,5	12,5	13,0	13,5	16,0	9,0	12,41	2,22
24	0,0	3,0	4,0	3,0	5,0	3,0	3,00	1,52
27	7,5	9,0	9,0	7,5	7,5	6,0	7,75	1,03
29	10,5	14,0	11,5	9,0	10,5	10,5	11,0	1,52
31	10,5	12,5	14,0	13,5	15,5	13,5	13,25	1,52

Tabelle 2: Interferon-Aktivität (LE) der hitzeinaktivierten (56°C für 1/2 Stunde) Serumproben eines T.evansi infizierten Ponys (Nr.4) ermittelt mit der Semimikrotitrationsmethode

$\bar{x}$: Mittelwert

s : Standardabweichung

Tage p.i.	Interferon-Meßwerte (LE)						$\bar{x}$	s
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00
3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00
6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00
7	0,0	0,0	3,0	0,0	3,0	3,0	1,50	1,50
10	10,5	7,5	9,0	7,5	5,5	7,5	7,91	1,53
13	3,0	4,1	3,8	3,5	3,0	4,0	3,56	0,44
15	17,5	16,0	16,0	16,5	17,5	15,5	16,50	0,76
17	11,5	10,5	10,5	12,0	11,5	12,0	11,33	0,62
20	17,5	15,5	16,0	16,5	16,0	16,0	16,25	0,62
22	16,0	16,5	16,0	16,0	16,0	16,5	16,16	0,23
24	5,0	6,5	9,0	7,5	7,5	6,5	7,00	1,22
25	7,5	9,0	7,5	7,5	9,0	7,5	8,00	0,70
27	9,0	10,5	11,5	12,0	10,5	12,0	10,91	1,05
31	3,0	4,0	7,2	5,0	6,8	6,5	5,41	1,54
35	6,0	5,5	4,5	6,0	5,5	4,5	5,33	0,62
36	3,0	4,0	3,0	4,5	5,0	4,5	4,00	0,76
38	7,5	7,5	6,5	7,2	7,5	6,5	7,11	0,44
41	22,5	21,5	20,5	21,5	22,5	20,5	21,50	0,81
43	22,5	27,0	21,5	27,0	27,0	21,5	24,41	2,60
45	27,0	22,5	22,5	21,5	27,0	21,5	23,66	2,39
48	16,5	18,0	17,5	18,0	17,5	17,5	17,50	0,50
50	11,5	11,5	11,5	11,5	10,5	9,0	10,91	0,93
56	9,0	11,5	7,5	9,0	7,5	9,0	8,91	1,33

Tabelle 3: Interferon-Aktivität (LE) der hitzeinaktivierten (56°C für 1/2 Stunde) Serumproben eines T.evansi infizierten Ponys (Nr.7) ermittelt mit der Semimikrotitrationsmethode

$\bar{x}$: Mittelwert

s : Standardabweichung

Tage p.i.	Interferon-Meßwerte (LE)						$\bar{x}$	s
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,00	0,00
3	0,0	0,0	3,0	0,0	3,0	0,0	1,00	1,41
10	0,0	3,0	0,0	3,5	3,5	2,0	2,00	1,50
13	4,5	5,5	6,8	6,5	5,0	4,5	5,46	0,90
17	7,5	10,5	9,0	9,0	7,5	10,5	9,00	1,22
20	9,0	7,5	9,0	9,0	7,5	7,5	8,25	0,75
22	7,5	7,5	9,0	9,0	7,5	7,5	8,00	0,70
24	17,5	15,5	13,5	14,0	15,5	15,5	15,25	1,28
27	21,5	18,0	19,5	18,0	17,5	19,0	18,91	1,33
29	27,0	27,0	27,0	22,5	33,0	27,0	27,25	3,05
31	16,5	15,5	16,0	16,0	15,5	17,5	16,16	0,68
33	12,5	12,5	13,0	13,5	14,0	15,5	13,50	1,04
34	22,5	19,0	20,5	21,5	22,5	20,5	21,08	1,23
36	18,0	20,5	18,0	22,5	20,5	21,5	20,16	1,67

Tabelle 4: Interferon-Aktivität (LE) der hitzeinaktivierten (56°C für 1/2 Stunde) Serumproben eines T.evansi infizierten Ponys (Nr.8) ermittelt mit der Semimikrotitraionsmethode

$\bar{x}$: Mittelwert

s : Standardabweichung

3.2.3. Charakterisierung der antiviral wirkenden Substanzen als Interferone

Die hitzeinaktivierten und bei -28°C gelagerten Serumproben, die für die Charakterisierung der antiviralen Substanz als Interferon ausgewählt worden waren, wurden vor der Charakterisierung aufgetaut und erneut auf ihre schützende Wirkung auf konfluente, equine Dermalfibroblasten gegenüber einer experimentellen VSV-Infektion geprüft. Alle in diesem Vorversuch getesteten Seren der Ponys Nr. 2, 7 und 8 zeigten nahezu unveränderte antivirale Aktivitäten (Tab. 1, 3, 4, 5).

Im Anschluß daran wurde bei allen diesen Proben eine Ultrazentrifugation ($50400 \times g$ über vier Stunden) durchgeführt und die dabei anfallenden Überstände mit der Semimikrotitrationsmethode erneut auf ihre antivirale Aktivität hin geprüft. Dabei zeigte sich, verglichen mit den Resultaten der entsprechenden nicht ultrazentrifugierten Serumproben (Tab. 5), bei allen ausgetesteten ultrazentrifugierten Proben eine erhöhte antivirale Wirksamkeit. Es konnte eine zwei- bis vierfache Steigerung der Interferon-Wirkung festgestellt werden. Die Werte lagen zwischen 42,50 und 81,00 LE (Tab. 6).

Eine Serumprobe von Pony Nr. 2 (17. Tag p.i.) ging bei der Ultrazentrifugation zu Bruch und stand somit einer weiteren Verwendung nicht mehr zur Verfügung.

Die bei dem oben genannten Versuchsdurchgang (Ultrazentr.) ermittelte Laboreinheiten der Ponys Nr. 2, 7 und 8 wurden bei allen im Folgenden durchgeführten Tests als Referenzwerte herangezogen. Die bei der Ultrazentrifugation gewonnenen Überstände der einzelnen Serumproben von jeweils ca. 6 ml wurden portioniert und dienten allen folgenden physiko-chemischen Tests als Ausgangssubstanzen.

Der Ultrazentrifugation schloß sich für die ausgewählten ultrazentrifugierten Serumproben der Ponys Nr. 2, 7 und 8 eine Behandlung mit Ribonuklease A (RNase) (1 mg/ml für eine Stunde) an. Die anschließend gemessenen antiviralen Aktivitäten der so be-

handelten Serumproben unterschieden sich von denen der nur ultrazentrifugierten Serumproben mit Werten zwischen 45,00 und 81,00 LE unwesentlich. Die antivirale Substanz dieser Serumproben stellte sich somit als RNase-stabil dar (Tab.6,7).

Als zweiter enzymatischer Test kam die Behandlung der ultrazentrifugierten Serumproben mit Desoxyribonuklease 1 (DNase) (100 µg/ml für zwei Stunden) zur Anwendung. Auch hier zeigte die gemessene antivirale Aktivität bei sechs von sieben der mit DNase behandelten Serumproben, verglichen mit den entsprechenden nur ultrazentrifugierten Referenzproben, keine signifikanten Wirkungsänderungen. Die Werte lagen zwischen 36,75 und 81,00 LE und waren somit weitgehend DNase-stabil. Lediglich die Serumprobe von Pony Nr.8 (29. Tag p.i.) stellte eine Ausnahme dar. Sie wies im Vergleich zu der entsprechenden nur ultrazentrifugierten Kontrollprobe nach der Behandlung mit DNase eine um 71,6 % erhöhte antivirale Aktivität von 109,00 LE auf (Tab.8).

Anschließend wurde geprüft, wie sich die festgestellte antivirale Substanz der ultrazentrifugierten Serumproben gegenüber einer Behandlung mit Trypsin (1 mg/ml für eine Stunde) verhält. Die diesen Untersuchungsgang abschließenden Messungen der Interferon-Aktivität zeigten bei sechs von sieben untersuchten Serumproben, wiederum den entsprechenden nur ultrazentrifugierten Kontrollproben gegenübergestellt, eine um 24,6 bis 77,7 % reduzierte antivirale Wirkung. Die Werte zwischen 14,50 und 34,50 LE wiesen somit für diese Serumproben eine Labilität gegenüber einer Trypsinbehandlung nach. Ganz im Gegensatz zu diesen Ergebnissen war bei einer Serumprobe von Pony Nr.8 (29. Tag p.i.) gegenüber der nur ultrazentrifugierten Kontrollprobe eine um 6,3 % gesteigerte antivirale Aktivität (67,50 LE) zu verzeichnen (Tab.9).

Ein weiteres Charakteristikum von Interferon stellt seine Stabilität bzw. Labilität gegenüber einer Säurebehandlung dar. Hierzu wurden die ultrazentrifugierten Serumproben 24 Stunden lang mit einem 0,2 M HCl-KCl Puffer (pH2) behandelt und anschließend für weitere 24 Stunden in PBS (pH7,2) verbracht.

Die mit dieser Methode behandelten Serumproben der Ponys Nr.7 und 8 (fünf von sechs säurebehandelten Proben) zeigten im Vergleich zu den lediglich ultrazentrifugierten Referenzproben deutliche Verluste der antiviralen Aktivität von 71,6 bis 89,0%. Die Werte von 9,00 - 18,00 LE waren somit als weitgehend säurestabil zu betrachten. Dagegen erreichte eine Serumprobe von Pony Nr.2 (15. Tag p.i.), als einzige Ausnahme nach der pH-Ab-senkung auf pH2 mit anschließender pH-Erhöhung auf pH7,2, einen 24-prozentigen Anstieg der antiviralen Wirkung (Tab.10). Als letzte der im Rahmen der Interferon-Charakterisierung durchgeführten Maßnahmen sollte untersucht werden, ob die antivirale Substanz der Serumproben eine direkte Wirkung auf Viren ausübt. Dazu wurde eine ultrazentrifugierte Serumprobe (29.Tag p.i.) von Pony Nr.8 eine halbe Stunde mit VSV-Stammlösung inkubiert und anschließend dieses Gemisch mit konfluenten, equinen Dermal-fibroblasten bebrütet. Die abschließende Auswertung erbrachte trotz Vorbehandlung der Viren mit der antiviral wirksamen Substanz eine vollständige Vernichtung der Fibroblastenkulturen, d.h. eine unverminderte zytotoxische Aktivität der Viren. Ein direkter Einfluß der Testseren auf das Wachstum der Test-fibroblasten konnte ausgeschlossen werden. Die Inkubation verdünnter Seren mit Fibroblasten parallel zur Inkubation der Fibroblasten nur mit Nährmedium als Kontrolle zeigte keinen Unterschied im Wachstum der Fibroblasten-Kulturen.

Pony Nr.	Tage p.i.	Interferon-Meßwerte (LE)				$\bar{x}$	s
2	15	22,5	22,5	21,5	22,5	22,00	0,50
2	17	34,0	34,0	37,0	40,0	36,25	2,48
7	43	27,0	27,0	33,0	22,5	27,37	3,73
7	45	27,0	27,0	27,0	27,0	27,00	0,00
8	24	16,0	18,0	17,5	17,5	17,25	0,75
8	27	19,0	18,0	18,0	19,0	18,50	0,50
8	29	27,0	33,0	27,0	22,5	27,37	3,73
8	31	16,5	19,0	19,5	17,5	18,12	1,19

Tabelle 5: Interferon-Aktivität (LE) der hitzeinaktivierten (56°C für 1/2 Stunde) Serumproben von drei T.evansi infizierten Ponys ermittelt mit der Semimikrotitrationsmethode

$\bar{x}$: Mittelwert

s : Standardabweichung

Pony Nr.	Tage p.i.	Interferon-Meßwerte (LE)				$\bar{x}$	s
2	15	81,0	81,0	81,0	81,0	81,00	0,00
7	43	81,0	81,0	81,0	81,0	81,00	0,00
7	45	81,0	45,0	60,0	68,0	63,50	13,04
8	24	68,0	58,0	68,0	65,0	64,75	4,08
8	27	81,0	81,0	81,0	81,0	81,00	0,00
8	29	68,0	53,0	65,0	68,0	63,50	6,18
8	31	40,0	44,0	43,0	43,0	42,50	1,50

Tabelle 6: Interferon-Aktivität (LE) der hitzeinaktivierten und ultrazentrifugierten (50400 x g für 4 Stunden) Serumproben von drei T.evansi infizierten Ponys ermittelt mit der Semimikrotitrationsmethode

$\bar{x}$: Mittelwert

s : Standardabweichung

Pony Nr.	Tage p.i.	Interferon-Meßwerte (LE)				$\bar{x}$	s
2	15	81,0	81,0	81,0	81,0	81,00	0,00
7	43	81,0	81,0	81,0	81,0	81,00	0,00
7	45	68,0	81,0	60,0	81,0	72,50	8,95
8	24	81,0	98,0	81,0	68,0	82,00	10,65
8	27	81,0	81,0	81,0	81,0	81,00	0,00
8	29	60,0	65,0	63,0	68,0	64,00	2,91
8	31	43,0	50,0	42,0	45,0	45,00	3,08

Tabelle 7: Interferon-Aktivität (LE) der hitzeinaktivierten, ultrazentrifugierten und mit RNase behandelten (1 mg/ml für 1 Stunde) Serumproben von drei T.evansi infizierten Ponys ermittelt mit der Semimikrotitrationsmethode
 $\bar{x}$: Mittelwert
s : Standardabweichung

Pony Nr.	Tage p.i.	Interferon-Meßwerte (LE)				$\bar{x}$	s
2	15	81,0	81,0	81,0	81,0	81,00	0,00
7	43	81,0	63,0	63,0	81,0	72,00	9,00
7	45	65,0	65,0	81,0	81,0	73,00	8,00
8	24	58,0	65,0	68,0	68,0	64,75	4,08
8	27	81,0	81,0	81,0	81,0	81,00	0,00
8	29	68,0	68,0	81,0	220,0	109,25	64,16
8	31	27,0	42,0	39,0	39,0	36,75	5,76

Tabelle 8: Interferon-Aktivität (LE) der hitzeinaktivierten, ultrazentrifugierten und DNase behandelten (100 µg/ml für 2 Stunden) Serumproben von drei T.evansi infizierten Ponys ermittelt mit der Semimikrotitrationsmethode
 $\bar{x}$: Mittelwert
s : Standardabweichung

Pony Nr.	Tage p.i.	Interferon-Meßwerte (LE)				$\bar{x}$	s
2	15	27,0	22,5	21,5	27,0	24,50	2,52
7	43	27,0	27,0	27,0	27,0	27,00	0,00
7	45	33,0	34,0	37,0	34,0	34,50	1,50
8	24	13,0	14,5	14,5	16,0	14,50	1,06
8	27	22,5	21,5	22,5	19,5	21,50	1,22
8	29	39,0	150,0	39,0	42,0	67,50	47,64
8	31	27,0	37,0	37,0	27,0	32,00	5,00

Tabelle 9: Interferon-Aktivität (LE) der hitzeinaktivierten, ultrazentrifugierten und mit Trypsin behandelten (1 mg/ml für 1 Stunde) Serumproben von drei mit T.evansi infizierten Ponys ermittelt mit der Semimikrotitrationsmethode

$\bar{x}$: Mittelwert

s : Standardabweichung

Pony Nr.	Tage p.i.	Interferon-Meßwerte (LE)				$\bar{x}$	s
2	15	----	50,0	53,0	200,0	101,00	70,01
7	43	14,0	19,0	16,5	16,5	16,50	1,76
7	45	7,5	9,0	5,5	6,1	7,02	1,35
8	27	13,0	13,0	12,0	16,0	13,50	1,50
8	29	19,5	18,0	16,5	18,0	18,00	1,06
8	31	7,5	9,0	10,5	9,0	9,00	1,06

Tabelle 10: Interferon-Aktivität (LE) der hitzeinaktivierten, ultrazentrifugierten und säurebehandelten (pH2 für 24 Stunden) Serumproben von drei T.evansi infizierten Ponys ermittelt mit der Semimikrotitrationsmethode

$\bar{x}$: Mittelwert

s : Standardabweichung

4. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

In der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob es im Verlauf einer experimentellen T.evansi Infektion beim Pony zu einer Produktion von Interferon kommt.

Die mit einem Klon (T.evansi, JAVA/55/PTV/1/ Stock 1/Clon 5) infizierten Ponys zeigten mit der Hämatokrit-Zentrifugentechnik erstmals 3-4 Tage post infectionem (p.i.) Parasiten im Blut. Die sich anschließenden Parasitämiegipfel erbrachten eine maximale Erregerkonzentration von 5×10^7 Trypanosomen pro Milliliter Blut (Tryp/ml). GEILER (1984) ermittelte bei seinen Untersuchungen an Pferden mit dem gleichen T.evansi-Klon und einer Infektionsdosis von 1 Tryp/g Körpergewicht Parasitämiewellen mit maximalen Erregerkonzentrationen von 6×10^6 Tryp/ml. Die Differenz zwischen den beiden obigen und den von SCHÖNEFELD (1979) und WÜST (1980) ebenfalls an Ponys erbrachten Resultaten mit maximal 10^8 Tryp/ml kann nur mit der Verwendung eines anderen Trypanosomen-Stammes (T.evansi-Stamm Bali) erklärt werden.

Der Infektionsverlauf der von mir zur Serumgewinnung verwendeten Ponys war subakut bis akut, da die Tiere bereits zwischen dem 34. und 56. Tag p.i. verendeten oder in Agonie getötet werden mußten. Untersuchungsergebnisse mit ähnlichen Infektionsverläufen wurden von HOARE (1956), GILL und SEN (1971), SCHÖNEFELD (1979), WÜST (1980), HÖRCHNER et al. (1983) und GEILER (1984) sowohl bei Pferden wie auch bei Ponys beschrieben und scheinen für asiatische Trypanosomen-Stämme typisch zu sein. Bei jungen Ponys beobachtete SCHÖNEFELD (1979) einen verlängerten Infektionsverlauf. Dieses konnte bei den in diesem Untersuchungsgang infizierten Ponys (zwei Alttiere und zwei Jungtiere) nicht bestätigt werden.

Die antivirale Aktivität der Seren der infizierten Ponys wurde von mir mit der von HO und ENDERS (1959), STEWART II (1979) und YILMA et al. (1982) beschriebenen Semimikrotitrationsmethode untersucht. Dabei wurde die hemmende Aktivität der Ponyseren auf den zytopathogenen Effekt des VSV auf equine Dermalfibro-

blasten überprüft. Der reziproke Wert der Verdünnungsstufe mit einem antiviralen Schutz der Fibroblasten von 50% gab die in den Serumproben enthaltene Menge Interferon an.

Mittels dieser Methode konnte im Serum aller Ponys im Verlauf der experimentellen T.evansi Infektion ein Interferon-Spiegel verschiedener Konzentrationen nachgewiesen werden, was vergleichbar ist mit den Beobachtungen von TALAS und GLAZ (1979), die im Verlauf einer T.equiperdum Infektion bei der Maus vom ersten Tag p.i. bis zum Exitus der Tiere einen erhöhten Interferon-Titer im Serum feststellten. Ähnliche Ergebnisse ermittelten HUANG et al. (1968) und RYTEL und MARSDEN (1970) nach experimenteller Infektion von Mäusen mit Plasmodium berghei bzw. T.cruzi. Eine direkte Vergleichbarkeit der Ergebnisse von Infektionen mit extrazellulär und intrazellulär parasitierenden Protozoen ist wegen der unterschiedlichen, aus den differierenden Vermehrungszyklen resultierenden, Immunantwort nur bedingt möglich.

Im Gegensatz zu den oben beschriebenen Resultaten beobachteten MARTINOTTI et al. (1981) und BANCROFT et al. (1983) nach experimenteller Infektion mit verschiedenen Stämmen von T.brucei, daß mittels der Semimikrotitrationsmethode nur zum Zeitpunkt der Parasitämieschübe hohe Interferon-Meßwerte nachweisbar waren. Auch SONNENFELD und KIERSZENBAUM (1981) konnten im Verlauf einer Infektion mit verschiedenen Stämmen der intrazellulär parasitierenden T.cruzi bei Mäusen nur am ersten und zweiten Infektionstag im Serum der infizierten Tiere Interferon feststellen. Sie machten aber darauf aufmerksam, daß die Parasitämien zu diesen Zeitpunkten unter der meßbaren Grenze lagen. Dagegen gelang es anderen Autoren mit gleicher Methodik nicht, Interferon im Serum von Malaria und T.cruzi infizierten Menschen nachzuweisen (RYTEL et al., 1973). Zum Teil liegen die Gründe für die unterschiedlichen Ergebnisse im verschiedenen Alter der untersuchten Patienten und in der Verwendung anderer malariaerregender Plasmodienstämme (OJO-AMAIZE et al., 1981). Unter Berücksichtigung des Alters der Tiere lag das Maximum des Interferon-Anstiegs in meinen Versuchen bei den beiden Jungtieren am 17. Tag p.i., wogegen bei einem Alttier

der höchste Interferon-Gehalt erst am 29. Tag p.i. erreicht wurde und bei dem anderen Alttier zwei Interferon-Peaks beobachtet werden konnten.

Vergleichbare Ergebnisse einer Korrelation zwischen dem Alter der Versuchstiere und der maximalen Interferon-Produktion ließen sich in der Literatur nicht auffinden. Lediglich RINALDO et al.

(1975) beobachteten bei in vitro Infektionen fetaler und älterer oviner Milzzellen mit Bluetongue-Virus und Herpes-Virus-Hominis-II, daß die jungen fetalen Milzzellen nach viraler Induktion eine vier- bis zehnfach höhere Interferon-Produktion aufwiesen, als die aktivierten Milzzellen adulter Schafe.

Ein Vergleich von Interferon-Gehalt im Serum und Parasitämieverlauf zeigte, daß bei zwei Tieren schon um den 3. Tag p.i. gleichzeitig mit dem Interferon-Nachweis ein Anstieg der Trypanosomen im Blut zu verzeichnen war. In den Proben der beiden anderen Ponys ließ sich zu diesem Zeitpunkt noch kein Interferon nachweisen. Im weiteren Verlauf der Infektionen fiel auf, daß zum Zeitpunkt hoher Interferon-Gehalte im Serum die Konzentrationen der Parasiten im Blut entweder unter der Nachweisgrenze lagen oder fallende bzw. bereits gesunkene Tendenzen aufwiesen. Diese Beobachtung gilt nicht für den Verlauf der Parasitämie und des Interferon-Gehaltes im Serum von Pony Nr.8 im Terminalstadium, denn dort fällt am 34. Tag p.i. ein starker Parasitämieschub mit einem Anstieg von Interferon im Serum zusammen. Die Feststellung von BANCROFT et al. (1983), daß bei der Maus nach einer *T.brucei* Infektion der erste positive Interferon-Nachweis nicht vor der ersten Parasitämiewelle möglich war, trifft in meinen Untersuchungen nur für zwei Ponys zu, während bei den beiden anderen Tieren, ähnlich wie nach Infektionen mit *T.equiperdum* (TALAS und GLAZ, 1979), schon innerhalb der ersten 48 bis 72 Stunden p.i. und vor der ersten Parasitämie Interferon nachweisbar war. Dieses wird bei Infektionen mit intrazellulären Protozoen wie *Plasmodium berghei* (HUANG et al., 1968) oder *T.cruzi* (RYTEL und MARSDEN, 1970) ebenfalls beobachtet. Hingegen stellten BANCROFT et al. (1983) für eine *T.brucei* Infektion der Maus eine positive Korrelation von Interferon-Titer und Parasitämie heraus. Entgegen den Beobachtungen von HUANG

et al. (1968) stellten OJO-AMAIZE et al. (1984) für eine Plasmodium berghei Infektion der Maus und OJO-AMAIZE et al. (1981) im Verlauf einer Plasmodium falciparum Infektion des Menschen ebenfalls eine zeitliche Zusammenlagerung von Interferon-Anstieg und Parasitämien heraus. In meinen Untersuchungen ließ sich somit keine eindeutige Kongruenz mit den zitierten Autoren nachweisen.

Für die Charakterisierung der antiviralen Aktivität wurden die Serumproben der infizierten Tiere auf ihre physiko-chemischen Eigenschaften hin untersucht.

Eine Substanz mit antiviraler Aktivität wird nur dann als Interferon angesprochen, wenn sie, wie verschiedene Autoren beschrieben, folgende Eigenschaften aufweist:

- nicht sedimentierbar (TORLONE et al., 1965; VENGRIS und MARE, 1972; DE SENA und RIO, 1975)
- ribonukleasestabil (ROSENQUIST und LOAN, 1967; ROSENQUIST, 1971; MARCUCCI et al., 1981)
- desoxyribonuklease-stabil (DE SENA und RIO, 1975; TALAS und GLAZ, 1979)
- trypsinlabil (JAHRLING, 1975; VIRELIZIER et al., 1977; KIERSZENBAUM und SONNENFELD, 1982)

Bei der von mir nachgewiesenen antiviral wirkenden Substanz handelte es sich um Interferon, weil sie durch die Ultrazentrifugation bei 50400 x g über vier Stunden nicht sedimentierbar war und sich nach einer Behandlung mit Ribonuklease und Desoxyribonuklease in ihrer antiviralen Wirkung weitgehend unbeeinflusst darstellte. Den im Anschluß an die Ultrazentrifugation festgestellten Anstieg der antiviralen Aktivität von 135-337 % führe ich auf sedimentierbare Bestandteile im Serum zurück. Durch die Entfernung dieser Substanzen entfaltete das im Serum enthaltene nicht sedimentierbare Interferon eine stärkere antivirale Aktivität.

Weiterhin zeichnete sich die von mir charakterisierte antivirale Substanz als weitgehend trypsinlabil

aus und entsprach somit den beschriebenen physiko-chemischen Eigenschaften von Interferon (JENTZSCH, 1970; HEIDEL, 1974). Durch die Untersuchung auf Empfindlichkeit der Proben gegenüber pH2 über 24 Stunden mit sich anschließender 24-stündiger Anhebung des pH-Wertes auf einen physiologischen Wert wird gemäß der Richtlinien der COMMITTEE ON INTERFERON NOMENCLATURE (1980) eine Einteilung in die entsprechenden Interferon-Typen ermöglicht. Interferon-alpha ($\text{IFN-}\alpha$) und Interferon-beta ($\text{IFN-}\beta$) stellen sich als säurestabil und Interferon-gamma ($\text{IFN-}\gamma$) als säurelabil dar. Das von mir nachgewiesene Interferon konnte wegen seiner weitgehenden Säurestabilität in Anlehnung an die Definition und Einteilung gemäß des COMMITTEE ON INTERFERON NOMENCLATURE (1980) hauptsächlich $\text{IFN-}\gamma$ zugeordnet werden. Inwieweit allerdings noch andere Interferon-Typen in den Serumproben der T.evansi infizierten Ponys enthalten waren, ließ sich mit der von mir verwendeten Nachweismethode nicht differenzieren. Nur pferdespezifische, gegen equines Interferon gerichtete Antikörper in Form von Anti-Interferon-Seren wären geeignet eine eindeutige Unterteilung der induzierten Interferon-Typen zu gewährleisten. Solche Testseren sind allerdings für Pferde noch nicht vorhanden. Anzeichen dafür, daß außer dem säureempfindlichen $\text{IFN-}\gamma$ noch die säurestabilen $\text{IFN-}\alpha$ und $\text{IFN-}\beta$ in den untersuchten Serumproben enthalten waren, sind eventuell darin zu sehen, daß die Interferon-Aktivität zwar durch die Säurebehandlung reduziert, aber nicht vollständig eliminiert werden konnte.

Die Inkubation einer Interferon-Serumprobe mit dem Testvirus (VSV) ergab, als zusätzliches Charakteristikum von Interferon, keine Aktivitätseinbußen der Viren. Dieses steht im Einklang mit den Beobachtungen von ROSENQUIST und LOAN (1967), HUANG et al. (1968) und RYTEL und MARSDEN (1970).

Die Veröffentlichungen anderer Autoren bezüglich bei Protozoosen nachgewiesener Interferon-Typen fallen teilweise sehr unterschiedlich aus. So konnten TALAS und GLAZ (1979) im Verlauf einer T.equiperdum Infektion $\text{IFN-}\alpha$ und $\text{IFN-}\beta$ feststellen, während BANCROFT et al. (1983) mit Hilfe spezifischer Anti-Interferon-Seren bei einer T.brucei Infektion der Maus sowohl der

Nachweis von IFN- γ als auch von IFN- α und IFN- β gelang. Die Autoren führten die Induktion von IFN- α und IFN- β auf eine eventuelle Kontamination bei der Methode ihrer Parasitenpräparation zurück, da der Nachweis dieser Interferon-Typen bei gereinigten Präparaten nicht mehr geführt werden konnte.

Auch für die Infektionen mit den intrazellulären Protozoen *T.cruzi* (KIERSZENBAUM und SONNENFELD, 1982; RYTEL und MARSDEN, 1970) und *Plasmodium berghei* (HUANG et al., 1968; OJO-AMAIZE et al., 1984) wurde der Nachweis von IFN- α , IFN- β und einem säureempfindlichen Interferon bzw. einem säurestabilen Interferon und IFN- γ beschrieben. Im Verlauf einer Toxoplasmose der Maus wurde ein säureempfindliches Interferon isoliert (RYTEL und JONES, 1966).

Die bei Protozoonosen beobachtete Induktion verschiedener Interferon-Typen wird von TALAS und GLAZ (1979) z.B. mit dem differierenden pathogenetischen Verlauf der Infektionen erklärt. So vermehren sich z.B. *T.cruzi* hauptsächlich intrazellulär dagegen *T.equiperdum* oder *T.brucei* extrazellulär. Durch diese pathogenetischen Unterschiede der Protozoonosen werden möglicherweise verschiedene Zellpopulationen zur Produktion der für die einzelnen Protozoonosen charakteristischen Interferon-Typen angeregt. Insofern ist auch in diesem Zusammenhang ein direkter Vergleich zwischen extra- und intrazellulären Protozoen kaum möglich.

BANCROFT et al. (1983) zeigten an Milzzellen *T.brucei* infizierter Mäuse, daß durch ein gegen T-Zellen gerichtetes Antiserum die sonst vorhandene Synthese von IFN- γ reduziert wurde. Die Autoren vermuteten deshalb in den T-Zellen die Hauptproduzenten von IFN- γ . Diese Annahme wird durch Berichte von STOBO et al. (1974), KIRCHNER et al. (1979), MARCUCCI et al. (1981), KASAHARA et al. (1983) und KEES et al. (1984) unterstrichen. Es ist deshalb anzunehmen, daß im Verlauf einer *T.evansi* Infektion die T-Zellen angeregt werden und damit unter anderem mit der Produktion von IFN- γ reagiert haben.

Eine Synthese von IFN- γ ist zwar T-zellabhängig kann aber unter bestimmten Voraussetzungen proliferationsunabhängig sein (RYTEL

und HOOKS, 1977; NEUMANN und SORG, 1977; KIRCHNER et al., 1979; KIRCHNER et al., 1980; LANDOLFO et al., 1981).

Bei Versuchen, die immunologische Reaktionsfähigkeit einzelner Arten von peripheren Blutlymphozyten (PBL) im Verlauf einer Trypanosomeninfektion mittels Mitogenstimulation zu überprüfen, beobachteten VAN DAM et al. (1980,1981) eine starke Beeinträchtigung bei *T.vivax* infizierten Ziegen. Dieses Ergebnis konnten DIESING (1981) und DIESING et al. (1983) bei *T.brucei* infizierten Ziegen und STEUBER (1984) bei einer *T.evansi* Infektion des Ponys nur teilweise für die T-Zellmitogene ConA und PHA und in geringem Maße (DIESING, 1981; DIESING et al., 1983) bzw. überhaupt nicht (STEUBER, 1984) für das T-zellabhängige B-Zellmitogen PWM bestätigen. Die Autoren machten zwar auf eine reziproke Korrelation zwischen Konzentrationsanstieg der PBL im Blut und lymphozytären Stimulationsindex aufmerksam, gaben aber zu bedenken, daß zwischen der Stimulierbarkeit und dem klinischen Erscheinungsbild kein Zusammenhang ablesbar war.

Werden nun die Ergebnisse des Interferon-Nachweises im Serum der infizierten Ponys zu den gemessenen Konzentrationen der PBL im Blut und deren proliferativer Antwort auf Mitogene (STEUBER, 1984) in Beziehung gesetzt, so ergeben sich folgende Beobachtungen. Außer bei einem Pony (Nr.2) liegen bei allen anderen Tieren zum Zeitpunkt höchster Interferon-Titer im Serum geringfügige Hemmungen des Proliferationsvermögens der PBL auf ConA vor, wogegen für PHA und PWM ähnliche Beziehungen nicht ablesbar waren. Zum Zeitpunkt der Interferon-Anstiege sanken jeweils die Konzentrationen der PBL im Blut der infizierten Ponys. Weitaus deutlicher als die B- oder T-Zellkonzentrationen war der zahlenmäßige Zuwachs von Null-Zellen im Verlauf einer *T.brucei* Infektion bei Mäusen (MAYOR-WITHEY et al., 1978) und Rindern (AHMED et al., 1981; LABOHM, 1982) sowie bei einer *T.congolense* Infektion bei verschiedenen Rinderrassen (AHMED et al., 1981; LABOHM, 1982). STEUBER (1984) bestätigte diese Ergebnisse auch für *T.evansi* Infektionen beim Pony. Gleichzeitig konnte LABOHM (1982) eine positive Korrelation zwischen dem Anstieg der Null-Zellen und der Trypanotoleranz der infizierten Tiere feststellen.

MORRISON et al. (1978) dagegen kamen bei einer *T.congolense* Infektion der Maus zu einem gegenteiligen Ergebnis, da sie bei trypanotoleranten Mäusen einen erniedrigten Spiegel von Null-Zellen in der Milz der Tiere nachwiesen. Andere Autoren berichteten von einer stimulierenden Wirkung von Interferon auf Null-Zellen in vitro und in vivo (ORTALDO et al., 1980; BORDEN et al., 1982). Auch wenn in meinen Untersuchungen die maximalen Interferon-Gehalte im Serum der infizierten Tiere zeitlich nicht mit dem Anstieg der Null-Zellen im Blut dieser Tiere (STEBBER, 1984) übereinstimmten, so ist dennoch eine Beziehung zwischen Interferon und Null-Zellen nicht auszuschließen.

Neben Berichten über Interaktionen zwischen Interferon und Null-Zellen gibt es auch vielfältige Literaturhinweise dafür, daß Interferon auf Natural-Killer-Zellen (NK-Zellen) entweder aktivitätssteigernd wirkt (GIDLUND et al., 1978; DJEU et al., 1979a, 1979b; ORTALDO et al., 1980; TARGAN, 1981; TARGAN und STEBBING, 1982; BORDEN et al., 1982) oder für die vermehrte Heranreifung von NK-Zellvorstadien verantwortlich ist (SAKSELA et al., 1979; TIMONEN et al., 1980). Auch im Verlauf protozoärer Infektionen wie z.B. mit *T.lewisi* und *T.muskuli* (ALBRIGHT et al., 1984) wird von einer Steigerung der NK-Zellaktivität berichtet. Die den NK-Zellen von verschiedenen Autoren zugeschriebene Eigenschaft, auf einen protozoären (RÖNNBLUM et al., 1982) oder nicht-protozoären (TIMONEN et al., 1980; PETER et al., 1980) Stimulus hin selber Interferon zu synthetisieren, wurde von ABB et al. (1984) zum Teil in Frage gestellt. Sie zeigten, daß die Behandlung der NK-Zellen mit spezifischen monoklonalen Antikörpern ihre Aktivität zwar hemmte, aber die Synthese von IFN- α unbeeinflusst blieb. Damit schlossen die Autoren die NK-Zellen als Produzenten von IFN- α aus. Die Rolle der NK-Zellen bezüglich der Synthese von IFN- γ ist noch nicht geklärt.

Eine weitere Zellpopulation, die durch Interferon in ihrer Aktivität beeinflusst werden kann, stellen die Makrophagen dar. Im Verlauf einer *T.brucei* Infektion der Maus stellten GROSSKINSKY und ASKONAS (1981) und GROSSKINSKY et al. (1983) Veränderungen der Oberflächenstrukturen von Makrophagen fest. Die-

se Autoren schrieben den Makrophagen sogar eine Schlüsselrolle in der körpereigenen Bekämpfung der Trypanosomen zu. MURRAY et al. (1974a) verzeichneten im Verlauf einer Infektion der Maus mit *T.brucei* einen Aktivitätsanstieg der Makrophagen. Angesichts dieser Beobachtungen ist auch bei protozoären Infektionen eine aktivierende Wirkung von Interferon auf Makrophagen nicht auszuschließen.

Auch wenn im Verlauf meiner Untersuchungen eine Beziehung zwischen dem Interferon-Gehalt der Serumproben und anderen immunologischen Parametern festgestellt wurde, reichen diese Ergebnisse jedoch noch nicht aus, um eine direkte Korrelation von Interferon-Produktion und Krankheitsgeschehen bei einer *T.evansi* Infektion des Ponys zu postulieren. Trotzdem kann letztendlich ein Einfluß von Interferon auf das immunologische Geschehen bei einer Trypanosomiasis nicht vollständig ausgeschlossen werden. Bis zur endgültigen Klärung dieser Fragestellung bedarf es somit noch weitreichenderer, mit einem zahlenmäßig größeren Patientenstamm durchgeführter Untersuchungen.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Synthese von Interferon wurde im Verlauf einer experimentellen Infektion mit einem Trypanosoma evansi Klon (JAVA/55/PTV/1/Stock 1/Clone 5) an vier Shetland-Ponys nachgewiesen. Die Untersuchungen erbrachten bei akutem bis subakutem Infektionsverlauf bis zum Exitus der Tiere nach 34 - 56 Tagen mehrere, unterscheidbare Parasitämie Gipfel mit einer maximalen Erregerkonzentration von 5×10^7 Trypanosomen /ml Blut. Zum Interferon-Nachweis nach der Semimikrotitrationsmethode wurden die regelmäßig gewonnenen und hitzeinaktivierten Serumproben der vier Ponys herangezogen.

Je nach antiviraler Aktivität entwickelte sich in Kulturen equiner Dermalfibroblasten, behandelt mit den Seren, ein unterschiedlich starker Schutz gegen eine experimentelle VSV-Infektion. Durch physiko-chemische Charakterisierung wurde die antiviral wirksame Substanz in den Serumproben weitgehend als das säurelabile Interferon-gamma identifiziert, wenn auch wegen partieller Säurestabilität ein Vorhandensein von Interferon-alpha und Interferon-beta nicht ausgeschlossen werden konnte.

Im Verlauf der Trypanosoma evansi Infektion ließ sich bei allen Ponys Interferon im Serum nachweisen, wobei zwei Tiere schon am 3. Tag p.i. und die beiden anderen Tiere erst am 6. - 7. Tag p.i. einen Serum-Interferon-Gehalt aufwiesen. Die maximalen Interferon-Titer beliefen sich auf 25 - 27 Laboreinheiten, wobei die Interferon-Maxima bei den Jungtieren am 17. Tag p.i. und bei den Alttieren zu späteren Zeitpunkten der Infektion (29. bzw. 43. Tag p.i.) beobachtet werden konnten.

SUMMARY

Synthesis of interferon has been demonstrated in four ponies experimentally infected with a clone of *Trypanosoma evansi* (JAVA/55/PTV/stock 1/clone 5).

During the acute and subacute course of infection several, distinguishable parasitaemic waves with a maximum of 5×10^7 trypanosomes /ml blood were observed.

Serum samples taken before and at different intervals after infection were heat-inactivated and tested for their antiviral activity. After in vitro treatment with serum, the equine dermal fibroblasts were protected against VSV infection.

Physico-chemical characterization of the serum showed that the substance with antiviral activity has interferon properties and is partially sensitive to pH2. This indicates that mainly interferon-gamma was produced. However it does not exclude presence of interferon-alpha and interferon-beta.

Interferon was demonstrated in two of the animals already on day 3 p.i. and in the other two ponies on day 6 and 7 p.i.

In younger animals maximal levels of interferon (ranging between 25 - 27 laboratory units (LE)) were observed on day 17 p.i., and in the elder ponies this was found to occur on day 29 and 43 p.i., respectively.

6. LITERATURVERZEICHNIS

- ABB, J., H. ABB, F. DEINHARDT (1984): Relationship between natural killer (NK) cells and interferon (IFN) alpha-producing cells in human peripheral blood. Studies with a monoclonal antibody with specificity for human natural killer cells.
Immunobiology 167, 359-364
- AGUET, M., F. BELARDELLI, B. BLANCHARD, F. MARCUCCI, I. GRESSER (1982): High-affinity binding of ^{125}I -labeled mouse interferon to a specific cell surface receptor. IV. Mouse γ interferon and cholera toxin do not compete for the common receptor site of α/β interferon.
Virology 117; 541-544
- AHMED, J.S., R. SÄLKER, E. ZWEYGARTH, G. REHBEIN, F. HÖRCHNER (1981): Influence of Trypanosoma infection on the formation of E, EA, and EAC rosettes with peripheral blood lymphocytes from calves.
Tropenmed. Parasitol. 32, 55-57
- AHMED, J.S., E. ZWEYGARTH, G. REHBEIN, R. SÄLKER (1983): Influence of Trypanosoma brucei brucei infection on delayed-type hypersensitivity to sheep red blood cells in mice.
Ann. Soc. belge Méd. trop. 63, 149-157
- ALBRIGHT, J.W., F.M. HATCHER, J.F. ALBRIGHT (1984): Interaction between murine natural killer cells and trypanosomes of different species.
Infect. Immun. 44, 315-319
- ANDREW, P.W., A.D.M. REES, A. SCOGING, N. DOBSON, R. MATTHEWS, J.T. WHITTALL, A.R.M. COATES, D.B. LOWRIE (1984): Secretion of a macrophage-activating factor distinct from interferon- γ by human T cell clones.
Eur. J. Immunol. 14, 962-964

- ASH, R.J., H.C. BUBEL (1966): Temporal relationship of interferon production and resistance to experimentally induced virus infection.
J. Infect. Dis. 116, 1-7
- ASKONAS, B.A., A.C. CORSINI, C.E. CLAYTON, B.M. OGILVIE (1979): Functional depletion of T and B memory cells and other lymphoid subpopulations during trypanosomiasis.
Immunology 36, 313-321
- ASSOKU, R.K.G. (1975): Immunological studies of the mechanism of anaemia in experimental *Trypanosoma evansi* infection in rats.
Int. J. Parasitol. 5, 137-145
- BACH, F.H., M.L. BACH, P.M. SONDEL (1976): Differential function of major histocompatibility complex antigens in T lymphocyte action.
Nature (Lond.) 259, 273-281
- BALKWILL, F.R., J. TAYLOR-PAPADIMITRIOU (1978): Interferon affects both G1 and S+G2 in cells stimulated from quiescence to growth.
Nature (Lond.) 274, 798-800
- BANCROFT, G.J., C.J. SUTTON, A.G. MORRIS, B.A. ASKONAS (1983): Production of interferon during experimental African trypanosomiasis.
Clin. exp. Immunol. 52, 135-143
- BANKS, G.T., K.W. BUCK, E.B. CHAIN, J.E. DARBYSHIRE, F. HIMMELWEIT, G. RATTI, J. SHARPE, D.N. PLANTEROS (1970): Antiviral activity of double-stranded RNA from virus isolated from *Aspergillus foetidus*.
Nature (Lond.) 227, 505-507
- BARRIGA, O.O. (1981): The immunology of parasitic infections. A handbook for physicians, veterinarians, and biologists.
Univ. Park Pr., Baltimore

- BORASCHI, D., S. CENSINI, A. TAGLIABUE (1984): Interferon reduces macrophage-suppressive activity by inhibiting prostaglandin E₂ release and inducing interleukin 1 production.
J. Immunol. 133, 764-768
- BORASCHI, D., P. GHEZZI, E. PASQUALETTO, M. SALMONA, L. NENCI-
ONI, D. SOLDATESCHI, L. VILLA, A. TAGLIABUE (1983):
Interferon decreases production of hydrogen peroxide
by macrophages: correlation with reduction of suppressive capacity and of anti-microbial activity.
Immunology 50, 359-368
- BORASCHI, D., D. SOLDATESCHI, A. TAGLIABUE (1982): Macrophage activity by interferon: dissociation between tumoricidal capacity and suppressive activity.
Eur. J. Immunol. 12, 320-326
- BORDEN, E.C., J.F. HOLLAND, T. DÁO, J. GUTTERMAN, L. WIENER, Y.C. CHANG, J. PATEL (1982): Leukocyte-derived interferon (α) in human breast carcinoma. The initial American Cancer Society Phase II trial.
Ann. Intern. Med. 97, 1-6
- BRANCA, A.A., C. BAGLIONI (1981): Evidence that types I and II interferon have different receptors.
Nature (Lond.) 294, 768-770
- BRODEUR, B.R., T.C. MERIGAN (1975): Mechanism of suppressive effect of interferon on antibody synthesis in vivo.
J. Immunol. 114, 1323-1328
- BROUTY-BOYE, D. (1980): Inhibitory effects of interferons on cell multiplication.
Lymphokine Reports 1, 99-112
- BROWN, K.N. (1971): Protective immunity to Malaria provides a model for the survival of cells in an immunologically hostile environment.
Nature (Lond.) 230, 163-167

- BRUNDA, M.J., R.B. HERBERMAN, H.T. HOLDEN (1980): Inhibition of murine natural killer cell activity by prostaglandins.
J. Immunol. 124, 2682-2687
- CAME, P.E., M. LIEBERMAN, A. PASCALE, G. SHIMONSKI (1969): Antiviral activity of an interferon-inducing synthetic polymer.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 131, 443-446
- CHANDRABOSE, K., P. CUATRECASAS, R.POTTATHIL (1981): Changes in fatty acyl chains of phospholipids induced by interferon in mouse sarcoma S-180 cells.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 98, 661-668
- CHANY, C. (1976): Membrane-blood interferon specific cell receptor system: role in the establishment and amplification of the antiviral state.
Biomedicine 24, 148-157
- CHANY, C., M. VIGNAL, P. COUILLIN, N. VAN CONG, J. BOVE, A. BOVE (1975): Chromosomal localization of human genes governing the interferon-induced antiviral state.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72, 3129-3133
- CHESTER, T.J., K. PAUCKER, T.C. MERIGAN (1973): Suppression of mouse antibody producing spleen cells by various interferon preparations.
Nature (Lond.) 246, 92-94
- CÔLE, B.C., J.C. OVERALL, P.S. LOMBARDI, L.A. GLASGOW (1976): Induction of interferon in ovine and human lymphocyte cultures by mycoplasmas.
Infect. Immun. 14, 88-94
- COLLYN D'HOOGE, M., D. BROUTY-BOYE, E.P. MALAISE, I. GRESSER (1977): Interferon and cell division. XII. Prolongation by interferon of the intermitotic time of mouse mammary tumor cells in vitro.
Exp. Cell. Res. 105, 73-76
- COMMITTEE ON INTERFERON NOMENCLATURE (NIH/WHO) (1980): Interferon nomenclature.
Nature (Lond.) 286, 110

- CORSINI, A.C., C.E. CLAYTON, B.A. ASKONAS, B.M. OGILVIE (1977):
Suppressor cells and loss of B-cell potential in
mice infected with *Trypanosoma brucei*.
Clin. exp. Immunol. 29, 122-131
- COULIS, P.A., R.M. LEWERT, F.W. FITCH (1978): Splenic suppressor cells and cell-mediated cytotoxicity in murine schistosomiasis.
J. Immunol. 120, 1074-1076
- CUPPLES, C.G., Y.H. TAN (1977): Effect of human interferon preparations on lymphoblastogenesis in Down's syndrome.
Nature (Lond.) 267, 165-167
- DE CLERCQ, E., V.G. EDY, J.J. CASSIMAN (1975): Non-antiviral activities of interferon are not controlled by chromosome 21.
Nature (Lond.) 256, 132-134
- DE CLERCQ, E., V.G. EDY, J.J. CASSIMAN (1976): Chromosome 21 does not code for an interferon receptor.
Nature (Lond.) 264, 249-251
- DE LEY, M., J. VAN DAMME, H. CLAEYS, H. WEENING, J.W. HEINE, A. BILLIAU, C. VERMYLEN, P. DE SOMER (1980): Interferon induced in human leukocytes by mitogens: production, partial purification and characterization.
Eur. J. Immunol. 10, 877-883
- DE MAEYER, E., J. DE MAEYER-GUIGNARD (1980): Host genotype influences immunomodulation by interferon.
Nature (Lond.) 284, 173-175
- DE MAEYER, E., J. DE MAEYER-GUIGNARD (1983): Delayed hypersensitivity to Newcastle disease virus in high and low interferon-producing mice.
J. Immunol. 130, 2392-2396
- DE MAEYER, E., J. DE MAEYER-GUIGNARD, M. VANDEPUTTE (1975): Inhibition by interferon of delayed hypersensitivity in mice.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 72, 1753-1758
- DE MAEYER-GUIGNARD, J., A. CACHARD, E. DE MAEYER (1975): Delayed hypersensitivity to sheep red blood cells: inhibition of sensitization by interferon.
Science 190, 574-578

- DE SENA, J., G.J. RIO (1975): Partial purification and characterization of RTG-2 fish cell interferon.
Infect. Immun. 11, 815-822
- DESMYTER, J., W.E. STEWART II (1976): Molecular modification of interferon: Attainment of human interferon in a confirmation active on cat cells but inactive on human cells.
Virology 70, 451-458
- DIAMANTSTEIN, T. W. KEPPLER, E. BLITSTEIN-WILLINGER, S. BENE-
FRAIM (1976): Suppression of the primary immune response in vivo to sheep red blood cells by B-cell mitogens.
Immunology 30, 401-407
- DIESING, L. (1981): Der Einfluß einer Trypanosoma brucei-
(Plimmer und Bradford, 1899) Infektion auf die in vitro Stimulation der peripheren Blutlymphozyten von Ziegen.
Vet.-med. Diss., FU Berlin
- DIESING, L., J.S. AHMED, E. ZWEYGARTH, F. HÖRCHNER (1983):
Trypanosoma brucei infection in goats. Response of peripheral blood lymphocytes to mitogen stimulation.
Tropenmed. Parasitol. 34, 75-78
- DJEU, J.Y., J.A. HEINBAUGH, H.T. HOLDEN, R.B. HERBERMAN (1979a):
Augmentation of mouse natural killer cell activity by interferon and interferon inducers.
J. Immunol. 122, 175-181
- DJEU, J.Y., J.A. HEINBAUGH, H.T. HOLDEN, R.B. HERBERMAN (1979b):
Role of macrophages in the augmentation of mouse natural killer cell activity by Poly I:C and interferon.
J. Immunol. 122, 182-188
- EARDLEY, D.D., A.N. JAYAWARDENA (1977): Suppressor cells in mice infected with Trypanosoma brucei.
J. Immunol. 119, 1029-1033

- EPSTEIN, D.A., P.F. TORRENCE, R.M. FRIEDMAN (1980): Double-stranded RNA inhibits a phosphoprotein phosphatase present in interferon-treated cells.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 107-111
- EUGUI, E.M., A.C. ALLISON (1979): Malaria infections in different strains of mice and their correlation with natural killer activity.
Bull. W.H.O. 57, (Suppl.1), 231-238
- EUGUI, E.M., A.C. ALLISON (1980): Differences in susceptibility of various mouse strains to haemoprotozoan infections: positive correlation with natural killer activity.
Parasite Immunol. 2, 277-292
- FARRAR W.L., H.M. JOHNSON, J.J. FARRAR (1981): Regulation of the production of immune interferon and cytotoxic T lymphocytes by interleukin 2.
J. Immunol. 126, 1120-1125
- FERTSCH, D., S.N. VOGEL (1984): Recombinant interferons increase macrophage Fc receptor capacity.
J. Immunol. 132, 2436-2439
- FIELD, A.K., A.A. TYTELL, G.P. LAMPSON, M.R. HILLEMANN (1967): Inducers of interferon and host resistance. II. Multi-stranded synthetic polynucleotide complexes.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 58, 1004-1009
- FRIDMAN, W.H., I. GRESSER, M.T. BANDU, M. AGUET, C. NEAUPORT-SAUTES (1980): Interferon enhances the expression of Fc γ receptors.
J. Immunol. 124, 2436-2441
- FRIEDMAN, R.M., H.L. COOPER (1967): Stimulation of interferon production in human lymphocytes by mitogens.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 125, 901-905
- FUSE, A., I. MAHMUD, T. KUWATA (1982): Mechanism of stimulation by human interferon of prostaglandin synthesis in human cell lines.
Cancer Res. 42, 3209-3214

- GEILER, B. (1984): Individueller und tierartbedingter Einfluß auf die Antigenvarianz von *Trypanosoma evansi* (STEEL, 1885).
Vet.-med. Diss., FU Berlin
- GERSHON, R.K. (1974): T-cell regulation: The 'second law of thymodynamics', 52-80. In: E.E. SERCARZ, A.R. WILLIAMSON, C.F. FOX: The immune system-genes, receptors, signals. Academic Press, Inc., New York
- GEWERT, D.R., M.J. CLEMENS (1980): Inhibition by interferon of thymidine uptake and desoxyribonucleic acid synthesis in human lymphoblastoid cells.
Biochem. Soc. Trans. 8, 343-354
- GIDLUND, M., A. ÖRN, H. WIGZELL, A. SENIK, I. GRESSER (1978): Enhanced NK cell activity in mice injected with interferon and interferon inducers.
Nature (Lond.) 273, 759-761
- GIFFORD, G.E., A. TIBOR, D.L. PEAVY (1971): Interferon production in mixed lymphocyte cell cultures.
Infect. Immun. 3, 164-166
- GILL, B.S., D.K. SEN (1971): Studies on surra. IV. Therapeutic activity of Mel B, Diminazene, and 'Te 85' in the equine infection (*Trypanosoma evansi*).
Indian J. Anim. Sci. 41, 743-746
- GOODWIN, L.G., D.G. GREEN, M.W. GUY, A. VOLLER (1972): Immunosuppression during trypanosomiasis.
Br. J. Exp. Pathol. 53, 40-43
- GRAY, P.W., D.V. GOEDDEL (1982): Structure of the human interferon gene.
Nature (Lond.) 298, 859-863
- GREENWOOD, B.M., J.H.L. PLAYFAIR, G. TORRIGIANI (1971): Immunosuppression in murine malaria. 1. General characteristics.
Clin. exp. Immunol. 8, 467-478
- GREENWOOD, B.M., H.C. WHITTLE, D.H. MOLYNEUX (1973): Immunosuppression in Gambian trypanosomiasis.
Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg. 67, 846-850

- GRESSER, I., M.T. BANDU, D. BROUTY-BOYE, M. TOVEY (1974): Pronounced antiviral activity of human interferon on bovine and porcine cells.
Nature (Lond.) 251, 543-545
- GRESSER, I., C. BOURALI, J.P. LEVY, D. FONTAINE-BROUTY-BOYE, M.T. THOMAS (1969): Increased survival in mice inoculated with tumor cells and treated with interferon preparations.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 63, 51-56
- GRESSER, I., M.G. TOVEY (1978): Antitumor effects of interferon.
Biochim. Biophys. Acta 516, 231-247
- GROLLMAN, F.F., G. LEE, S. RAMOS, P.S. LAZO, H.R. KABACK, R.M. FRIEDMAN, L.D. KOHN (1978): Relationships of the structure and function of the interferon receptor to hormone receptors and establishment of the antiviral state.
Cancer Res. 38, 4172-4185
- GROSSKINSKY, C.M., B.A. ASKONAS (1981): Macrophages as primary target cells and mediators of immune dysfunction in African trypanosomiasis.
Infect. Immun. 33, 149-155
- GROSSKINSKY, C.M., A.B. EZEKOWITZ, G. BERTON, S. GORDON, B.A. ASKONAS (1983): Macrophage activation in murine African trypanosomiasis.
Infect. Immun. 39, 1080-1086
- HAMANN, U., P.H. KRAMMER (1983): Segregation of macrophage activating factor (MAF) and immune interferon (IFN- γ) activities in the supernatant of induced T cell clones in limiting dilution microcultures.
Immunobiology 165, 270-271
- HAMBURG, S.I., G.H. CASSELL, M. RABINOVITCH (1980): Relationship between enhanced macrophage phagocytic activity in the induction by Newcastle disease virus in mice.
J. Immunol. 124, 1360-1364

- HAMBURG, S.I., R.E. MANEJIAS, M. RABINOVITCH (1978): Macrophage activating: Ingestion of IgG-coated erythrocytes after administration of interferon inducers to mice. *J. Exp. Med.* 147, 593-598
- HATCHER, F.M., R.E. KUHN (1982): Destruction of *Trypanosoma cruzi* by natural killer cells. *Science* 218, 295-296
- HEIDEL, G. (1974): Interferone, Interferoninduktoren. *Monatsh. Veterinärmed.* 29, 227-232
- HERBERMAN, R.B. (1980): Natural cell-mediated immunity against tumors. Academic Press, New York
- HERBERMAN, R.B., S. BARTRANI, J.S. HASKILL, M.E. NUNN, H.T. HOLDEN, W.H. WEST (1977): Fc receptors on mouse effector cells mediating natural cytotoxicity against tumor cells. *J. Immunol.* 119, 322-326
- HERBERMAN, R.B., J.Y. DJEU, H.D. KAY, J.R. ORTALDO, C. RICCARDI, G.D. BONNARD, H.T. HOLDEN, R. FAGNANI, A. SANTONI, P. PUCCETTI (1979a): Natural killer cells. *Immunol. Rev.* 44, 43-70
- HERBERMAN, R.B., J.R. ORTALDO, G.D. BONNARD (1979b): Augmentation by interferon of human natural and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. *Nature (Lond.)* 277, 221-223
- HO, M. (1964): Interferon-like viral inhibitor in rabbits after intravenous administration of endotoxin. *Science* 146, 1472-1474
- HO, M., J.F. ENDERS (1959): An inhibitor of viral activity appearing in infected cell cultures. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 45, 385-389
- HOARE, C.A. (1956): Morphological and taxonomic studies on mammalian trypanosomes. *Parasitology* 46, 130-172

- HOARE, C.A. (1957): The spread of African trypanosomes beyond their natural range. (Essay on histological zoogeography of the host-parasite system).
Z. Tropenmed. Parasitol. 8, 157-161
- HOARE, C.A. (1965): Vampire bats as vectors and hosts of equine and bovine trypanosomes.
Acta trop. 22, 204-216
- HOARE, C.A. (1972): The trypanosomes of mammals. A zoological monograph.
Blackwell Scientific Publications, Oxford, Edinburgh
- HÖRCHNER, F., A. SCHÖNEFELD, B. WÜST (1983): Experimental infection of horses with *Trypanosoma evansi*. I. Parasitological and clinical results.
Ann. Soc. belge Méd. trop. 63, 127-135
- HUANG, K.Y., R.M. DONAHOE, F.B. GORDON, H.R. DRESSLER (1971): Enhancement of phagocytosis by interferon-containing preparations.
Infect. Immun. 4, 581-588
- HUANG, K.Y., W.W. SCHULTZ, F.B. GORDON (1968): Interferon induced by *Plasmodium berghei*.
Science 162, 123-124
- HUDSON, K.M., C. BYNER, J. FREEMAN, R.J. TERRY (1976): Immuno-depression high IgM levels and evasion of the immune response in murine trypanosomiasis.
Nature (Lond.) 264, 256-258
- HUDSON, K.M., R.J. TERRY (1979): Immunosuppression and the course of infection of a chronic *Trypanosoma brucei* infection in mice.
Parasite Immunol. 1, 317-326
- IMANISHI, J., K. OISHI, T. KISHIDA, Y. NEGORO, M. IZUKA (1977): Effects of interferon preparations on rabbit corneal xenograft.
Arch. Virol. 53, 157-161
- ISAACS, A., J. LINDENMANN (1957): Virus interference. I. The interferon.
Proc. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci. 147, 258-267

- ITHO, K., M. INOUE, S. KATAOKA, K. KUMAGAI (1980): Differential effect of interferon expression of IgG- and IgM-Fc receptors on human lymphocytes.
J. Immunol. 124, 2589-2595
- JAHRLING, P.B., E. NAVARRO, W.F. SCHERER (1976): Interferon induction and sensitivity as correlates to virulence of Venezuelan encephalitis viruses for hamsters.
Arch. Virol. 51, 23-35
- JAYAWARDENA, A.N., D.B. MURPHY; C.A. JANEWAY, R.K. GERSHON (1982): T cell-mediated immunity in Malaria I. The Ly phenotype of T cells mediating resistance to Plasmodium yoelii.
J. Immunol. 129, 377-381
- JAYAWARDENA, A.N., G.A.T. TARGETT, E. LEUCHARS, R.L. CARTER, M.J. DOENHOFF, A.J.S. DAVIES (1975): T-cell activation in murine Malaria.
Nature (Lond.) 258, 149-151
- JAYAWARDENA, A.N., B.H. WAKSMAN (1977): Suppressor cells in experimental trypanosomiasis.
Nature (Lond.) 265, 539-541
- JENTSCH, K.D. (1970): Interferon (Induktion, Eigenschaften, Nachweis, Wirkungsweise, Bedeutung).
Monatsh. Verterinärmed. 25, 835-840
- JONES, J.F., C.A. CRANDALL, R.B. CRANDALL (1976): T-dependent suppression of the primary antibody response to sheep erythrocytes in mice infected with Trichinella spiralis.
Cell. Immunol. 27, 102-110
- JORDAN, G.W., R.P. FRIED, T.C. MERIGAN (1974): Administration of human leukocyte interferon in herpes zoster. I. Safety circulating antiviral activity and host responses to interferon.
J. Infect. Dis. 130, 56-62
- JUNGWIRTH, C., I. HORAK, G. BODO (1969/1970): Interferon.
Zbl. Bakt. 1. Orig. 212, 370-374

- KALTMANN, B., D. GEMSA, L. HÜLTNER, U. KREES, C. KUBELKA, P.H. KRAMMER (1983): Segregation of immune interferon (IFN- γ), macrophage activating factors, and colony stimulation factors in concanavalin A induced super-natants of T cell hybridomas.
Immunobiology 165, 289
- KASAHARA, T. J.J. HOOKS, S.F. DOUGHERTY, J.J. OPPENHEIM (1983): Interleukin 2-mediated immune interferon (IFN- γ) production by human T cells and T cell subsets.
J. Immunol. 130, 1784-1789
- KATZ, D.H. (1977): Lymphocyte differentiation, recognition and regulation.
Academic Press, New York
- KATZ, D.H. (1980): The immune system: An overview.
In: H.H. FUDENBERG, D.P. STITES, J.L. CALDWELL, J.V. WELLS, Basic and clinical immunology, 1-8.
Lange Medical Publications, Los Altos, California
- KAZAR, J. (1966): Interferon-like inhibitor in mouse sera induced by rickettsia.
Acta Virol. 10, 277
- KEES, U., B. KALTMANN, F. MARCUCCI, L. HÜLTNER, F. STABER, P.H. Krammer (1984): Frequency and activity of immune interferon (IFN- γ) and colony stimulating factor-producing human peripheral blood T lymphocytes.
Eur. J. Immunol. 14, 268-373
- KELSO, A., A.L. GLASERBROOK, O. KANAGAWA, K.T. BRUNNER (1982): Production of macrophage-activating factor by T lymphocyte clones and correlation with other lymphokine activities.
J. Immunol. 129, 550-556
- KIERSZENBAUM, F. G. SONNENFELD (1982): Characterization of the antiviral activity produced during Trypanosoma cruzi infection and positive effects of exogenous interferon against experimental Chagas' disease.
J. Parasitol. 68, 194-198

- KIRCHNER, H., H. ENGLER, C.H. SCHRÖDER, R. ZAWATZKY, E. STORCH (1983a): Herpes simplex virus type 1-induced interferon production and activation of natural killer cells in mice.
J. Gen. Virol. 64, 437-441
- KIRCHNER, H., H. FENKL, R. ZAWATZKY, H. ENGLER, H. BECKER (1980): Dissociation between interferon production induced by phytohemagglutinin and concanavalin A in spleen cell cultures of nude mice.
Eur. J. Immunol. 10, 224-225
- KIRCHNER, H., W. NICKLAS, K. KEYSSNER, R. BERGER, E. STORCH (1983b): Induction of gamma interferon by a factor in the supernatant of cultured mycoplasma arthritidis.
Immunobiology 165, 294-295
- KIRCHNER, H., H.J. SPECHTER (1982): Fortschritte in der Interferonforschung, Symposium in Landshut.
Wissenschaftliche Informationen, Milupa AG, Friedrichsdorf/Taunus 6, 1-31
- KIRCHNER, H., R. ZAWATZKY, H. ENGLER, V. SCHIRRMACHER, H. BECKER, P. VON WUSSOW (1979): Production of interferon in the murine mixed lymphocyte culture. II. Interferon production is a T cell-dependent function, independent of proliferation.
Eur. J. Immunol. 9, 824-826
- KOBAYAKAWA, T., J. LOUIS, S. IZUI, P.H. LAMBERT (1979): Auto-immune response to DNA, red blood cells, and thymocyte antigens in association with polyclonal antibody synthesis during experimental African trypanosomiasis.
J. Immunol. 122, 296-301
- KONGSHAVN, P.A.L., D. HAWKINS, J. SHUSTER (1976): The biology of the immune response. In: S.O. FREEDMAN, P.GOLD, Clinical Immunology, 1-64. Second edition Medical Department Harper and Row Publishers, Hagerstown, Maryland, New York, San Francisco, London

- KONO, Y. (1967): Interferon-like inhibitor produced in bovine leukocyte cultures after inoculation with endotoxin. Arch. gesamte Virusforsch. 21, 276-281
- KONO, Y., M. HO (1965): The role of the reticuloendothelial system in interferon formation in the rabbit. Virology 25, 162-166
- KUHN, R.E., F.M. HATCHER, M.C. CERRONE (1981): Abstracts of the 56th Annual Meeting of the American Society of Parasitologists, Montreal, Canada
- zit. nach KIERSZENBAUM und SONNENFELD (1982): Characterization of the antiviral activity pronounced during Trypanosoma cruzi infection and positive effects of exogenous interferon against experimental Chagas' disease. J. Parasitol. 68, 194-198
- LABOHM, R. (1982): B-, T- und O-Zellen im Verlaufe experimenteller Trypanosoma congolense (BRODEN, 1904)-Infektionen bei verschiedenen Rinderrassen (Bos taurus, Bos indicus) in Togo. Vet.-med. Diss., FU Berlin
- LANDOLFO, S., H. KIRCHNER, M.M. SIMON (1982): Production of immune interferon is regulated by more than one T cell subset: Lyt-1,2,3, and Quat-5 phenotypes of murine T lymphocytes involved in primary and secondary mixed lymphocyte reaction. Eur. J. Immunol. 12, 295-299
- LANDOLFO, S., F. MARCUCCI, V. SCHIRRMACHER, H. KIRCHNER (1981): Characteristics of alloantigens and cellular mechanisms responsible for gamma-interferon production in primary murine MLC. J. Interferon Res. 1, 339-345
- LAWN, R.M., J. ADELMAN, T. J. DULL, M. GROSS, D. GOEDDEL, A. ULLRICH (1981): A DNA sequence of two closely linked human leukocyte interferon genes. Science 212, 1159-1162

- LECLERC, J.C., C. PLATER, W.H. FRIDMAN (1977): The role of the Fc receptor (FcR) or thymus-derived lymphocytes. I. Presence of FcR on cytotoxic lymphocytes and absence of direct role in cytotoxicity.
Eur. J. Immunol. 7, 543-548
- LENGYEL, P. (1982): Biochemistry of interferons and their actions.
Annu. Rev. Biochem. 51, 251-282
- LINDAHL, P. P. LEARY, I. GRESSER (1972): Enhancement by interferon of the specific cytotoxicity of sensitized lymphocytes.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 69, 721-725
- LINDAHL, P., P. LEARY, I. GRESSER (1974): Enhancement of the expression of histocompatibility antigens of mouse lymphoid cells by interferon in vitro.
Eur. J. Immunol. 4, 779-784
- LINDAHL-MAGNUSSEN, P., P. LEARY, I. GRESSER (1971): Interferon and cell division. IV. Inhibitory effect of interferon on the multiplication of mouse embryo and mouse kidney cells in primary cultures.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 138, 1044-1050
- LINDAHL-MAGNUSSEN, P., P. LEARY, I. GRESSER (1972): Interferon inhibits DNA synthesis induced in mouse lymphocyte suspension by phytohemagglutinin or by allogeneic cells.
Nature New Biol. 237, 120-121
- LOHMANN-MATTHES, M.L. (1983): Relationship between MAF and interferon.
Immunobiology 165, 312
- LONGSTAFFE, J.A., J. FREEMAN, K.M. HUDSON (1973): Immunosuppression in trypanosomiasis: Some thymus dependent and thymus independent responses.
Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg. 67, 264

- LONGSTAFFE, J.A., R.J. TERRY (1982): Phytohemagglutinin reactivity in circulating peripheral blood lymphocytes during a *Trypanosoma brucei* infection: sequential studies in individual guinea-pigs.
Parasite Immunol. 4, 187-196
- MANSFIELD, J.M., O. BAGASRA (1978): Lymphocyte function in experimental African trypanosomiasis. I. B cell responses to helper T cell-independent and -dependent antigens.
J.Immunol. 120, 759-765
- MANSFIELD, J.M., J.H. WALLACE (1974): Suppression of cell-mediated immunity in experimental African trypanosomiasis.
Infect. Immunol. 10, 335-339
- MARCHALONIS, J.J. (1980): Cell interaction in immune responses, 115-128. In: H.H. FUDENBERG, D.P. STITES, J.L. CALDWELL, J.V. WELLS, Basic and clinical immunology.
Lange Publications, Los Altos, California
- MARCUCCI, F., M. WALLER, H. KIRCHNER, P. KRAMMER (1981): Production of immune interferon by murine T-cell clones from long-term cultures.
Nature (Lond.) 291, 79-81
- MARTINOTTI, M.G., M. FORNI, A.M. DEL MONTE, M. GIOVARELLI, G. FORNI, S. LANDOLFO (1981): Immune depression in *Trypanosoma brucei* infected mice. Sequential histological and immunological findings.
Boll. Ist. Sieroter. Milan. 60, 288-296
- MAYOR-WITHEY, K.S., C.E. CLAYTON, G.E. ROELANTS, B.A. ASKONAS (1978): Trypanosomiasis leads to extensive proliferation of B, T and null cells in spleen and bone marrow.
Clin. exp. Immunol. 34, 359-363
- McCOULLOUGH, B. (1972): Interferon response in cats.
J. Infect. Dis. 125, 174-179

- MELTZER, M.S., W.R. BENJAMIN, J.J. FARRAR (1982): Macrophage activation for tumor cytotoxicity: induction of macrophage tumoricidal activity by lymphokines from El-4, a continuous T cell line.
J. Immunol. 129, 2802-2807
- MOCHIZUKI, D., J. WATSON, S. GILLIS (1980): Biochemical and biologic characterization of lymphocyte regulatory molecules. IV. Purification of interleukin 2 from a murine T cell lymphoma.
J. Immunol. 125, 2597-2583
- MOORE, M., W.J. WHITE, M.R. POTTER (1980): Modulation of target cell susceptibility to human natural killer cells by interferon.
Int. J. Cancer 25, 565-572
- MORRISON, I., G.E. ROELANTS, K.S. MAYOR-WITHEY, M. MURRAY (1978): Susceptibility of inbred strains of mice to Trypanosoma congolense: correlation with changes in spleen lymphocyte populations.
Clin. exp. Immunol. 32, 25-40
- MUNOZ, A., L. CARRASCO, M. FRESNO (1983): Enhancement of susceptibility of HSV-1-infected cells to natural killer lysis by interferon.
J. Immunol. 131, 783-787
- MURRAY, P.K., F.W. JENNINGS, M. MURRAY, G.M. URQUHART (1974a): The nature of immunosuppression in Trypanosoma brucei infections in mice I. The role of the macrophage.
Immunology 27, 815-824
- MURRAY, P.K., F.W. JENNINGS, M. MURRAY, G.M. URQUHART (1974b): The nature of immunosuppression in Trypanosoma brucei infections in mice II. The role of the T and B lymphocytes.
Immunology 27, 825-840
- MUSOKE, A.J., V.M. NANTULYA, A.F. BARBET, F. KIRONDE, T.C. McGUIRE (1981): Bovine immune response to African trypanosomes: specific antibodies to variable surface glycoproteins of Trypanosoma brucei.
Parasite Immunol. 2, 97-106

- NANTULYA, V.M., A.J. MUSOKE, F.R. RURANGIRWA, A.F. BARBET,
J.M. NGAIRA, J.M. KATENDE (1982): Immune depression
in African trypanosomiasis: the role of antigenic
competition.
Clin. exp. Immunol. 47, 234-242
- NEUMANN, C., C. SORG (1977): Immune interferon : I. Production
by lymphokine-activated murine macrophages.
Eur. J. Immunol. 7, 719-725
- OJO-AMAIZE, E.A., L.S. SALIMONU, A.I.O. WILLIAMS, O.A.O.
AKINWOLERE, R. SHABO, G.V. ALM, H. WIGZELL (1981):
Positive correlation between degree of parasitemia,
interferon titers, and natural killer cell activity
in Plasmodium falciparum-infected children.
J. Immunol. 127, 2296-2300
- OJO-AMAIZE, E.A., J. VILCEK, A.H. COCHRANE, R.S. NUSSENZWEIG
(1984): Plasmodium berghei sporozoites are mitogenic
for murine T cells, induce interferon, and activate
natural killer cells.
J. Immunol. 133, 1005-1009
- ORTALDO, J.R., S. PESTKA, R.B. SLEASE, M. RUBENSTEIN, R.B.
HERBERMAN (1980): Augmentation of human K-cell
activity.
Scand. J. Immunol. 12, 365-369
- OWERBACH, D., W.J. RUTTER, T.B. SHOWS, P. GRAY, D.V. GOEDDEL,
R. M. LAWN (1981): Leukocyte and fibroblast inter-
feron genes are located on human chromosome 9.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78, 3123-3127
- PARRILLO, J.E., A.S. FAUCI (1978): Comparison of the effector
cells in human spontaneous cellular cytotoxicity and
antibody-dependent cellular cytotoxicity: Differential
sensitivity of effector cells to in vivo and in vitro
corticosteroids.
Scand. J. Immunol. 8, 99-107
- PEARSON, T.W., G.E. ROELANTS, L. B. LUNDIN, K.S. MAYOR-WITHEY
(1978): Immune depression in trypanosome-infected
mice I. Depressed T-lymphocyte response.
Eur. J. Immunol. 8, 723-727

- PERLMAN, P., H. PERLMAN, H. WIGZELL (1972): Lymphocyte mediated cytotoxicity in vitro. Induction and inhibition by humoral antibody and nature of effector cells. Transplant. Rev. 13, 91-114
- PETER, H.H., S. FERRONE, R. ZAWATZKY, S. EULER, W. LEIBOLD, H. KIRCHNER (1980): Human peripheral null lymphocytes. II. Producers of type-I interferon upon stimulation with tumor cells, herpes simplex virus and Corynebacterium parvum. Eur. J. Immunol. 10, 547-555
- PETER, H.H., J. PAVIE-FISCHER, W.H. FRIDMAN, C. AUBERT, J.P. CESARINI, R. ROUBIN, F.M. KOURILSKY (1975): Cell mediated cytotoxicity in vitro of normal human lymphocytes against tissue culture melanoma cell line (IGR3). J. Immunol. 115, 539-548
- PFEFFER, L.M., J.S. MURPHY, I. TAMM (1979): Interferon effects on the growth and division of human fibroblasts. Exp. Cell Res. 121, 111-120
- PFEFFER, L.M., E. WANG, I. TAMM (1980a): Interferon inhibits the redistribution of cell surface components. J. Exp. Med. 152, 469-474
- PFEFFER, L.M., E. WANG, I. TAMM (1980b): Interferon effects on microfilament organization, cellular fibronectin distribution and cell motility in human fibroblasts. J. Cell Biol. 85, 9-17
- POTTATHIL, R., K.A. CHANDRBOSE, P. CUATRECASAS, D.J. LANG (1980): Establishment of the interferon-mediated antiviral state: Role of the fatty acid cyclooxygenase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77, 5437-5440
- REED, L.J., H. MUENCH (1938): A simple method of estimating per cent endpoints. Am. J. Hyg. 27, 493-497
- REVEL, M., D. BASH, F.H. RUDDLE (1976): Antibodies to a cell-surface component coded by human chromosome 21 inhibit action of interferon. Nature (Lond.) 260, 139-140

- RINALDO, C.R., J.C. OVERALL, L.A. GLASGOW (1975): Viral replication and interferon production in fetal and adult ovine leukocytes and spleen cells.
Infect. Immun. 12, 1070-1077
- RÖNNBLUM, L., E.A. OJO-AMAIZE, L. FRANZEN, H. WIGZELL, G.V. ALM (1982): Plasmodium falciparum parasites induce interferon production in human peripheral blood 'null' cells in vitro.
Parasite Immunol. 5, 165-172
- ROSENQUIST, B.D., (1971): Polyribonucleosinic-polyribocytidylic acid-induced interferons in calves.
Am. J. Vet. Res. 32, 35-39
- ROSENQUIST, B.D., R.W. LOAN (1967): Interferon production with strain SF-4 of Parainfluenza-3 virus.
Am. J. Vet. Res. 28, 619-628
- ROSSI, G.B., A. DOLEI, L. CIOE, A. BENEDETTO, G.P. MATAESE, F. BELARDELLI (1977): Inhibition of transscption and translation of globin messenger RNA in dimethyl sulfoxide-stimulated Friend erythroleukemic cells treated with interferon.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74, 2036-2040
- RYTEL, M.W., T.C. JONES (1966): Induction of interferon in mice infected with Toxoplasma gondii.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 123, 859-862
- RYTEL, M.W., J.J. HOOKS (1977): Induction of immune interferon by murine Cytomegalovirus.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 155, 611-614
- RYTEL, M.W., P.D. MARSDEN (1970): Induction of an interferon-like inhibitor by Trypanosoma cruzi infection in mice.
Am. J. Trop. Med. Hyg. 19, 929-931
- RYTEL, M.W., H.D. ROSE, R.D. STEWART (1973): Absence of circulating interferon in patients with Malaria and American trypanosomiasis.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 144, 122-123

- SAKSELA, E., T. TIMONEN, K. CANTELL (1979): Human natural killer cell activity is augmented by interferon via recruitment of 'pre-NK' cells.
Scand. J. Immunol. 10, 257-266
- SCHÖNEFELD, A. (1979): Parasitologischer, klinischer und Serumtiterverlauf bei mit Trypanosoma evansi (STEEL, 1885) infizierten Ponys.
Vet.-med. Diss., FU Berlin
- SCHULTZ, R.M., J.D. PAPAMATHEAKIS, M.A. CHIRIGOS (1977): Interferon: an inducer of macrophage activation by polyanions.
Science 197, 674-676
- SCOTT, J.M., R.G. PEGRAM, P.H. HOLMES, T.W.F. PAY, P.A. KNIGHT, F.W. JENNINGS, G.M. URQUHART (1977): Immunosuppression in bovine trypanosomiasis: field studies using foot- and mouth-disease vaccine and clostridial vaccine.
Trop. Anim. Health Prod. 9, 159-165
- SEGHAL, P.B., A.D. SAGAR, I.A. BRAUDE, D. SMITH (1981): Heterogeneity of human α and β interferon mRNA species, 17-32.
In: E. DE MAEYER, G. GALSSO, H. SCHELLEKENS, The biology of the interferon system.
Biomedical Press, Elsevier, North Holland
- SHIEN, Y.S. (1979): Studies on immunosuppression in experimentally induced surra goats. I. Serological responses to Brucella abortus vaccinations before and after administration of Naganol.
J. Chin. Soc. vet. Sci. 5, 19-22
- SILVA, A., B. BONAVIDA, S. TARGAN (1980): Mode of action of interferon-mediated modulation of natural killer cytotoxic activity: recruitment of pre-NK cells and enhanced kinetics of lysis.
J. Immunol. 125, 479-484
- SOLLOD, A.E., G.H. FRANK (1979): Bovine trypanosomiasis: effect on the immune response of the infected host.
Am. J. Vet. Res. 40, 658-664

- SONNENFELD, G., F. KIERSZENBAUM (1981): Increased serum levels of an interferon-like activity during the acute period of experimental infection with different strains of *Trypanosoma cruzi*.
Am. J. Trop. Med. Hyg. 30, 1189-1191
- SONNENFELD, G., D. MERUELO, H.O. DEVITT, T.C. MERIGAN (1981): Effect of type I and type II interferons on murine thymocytes surface antigen expression: induction or selection?
Cell Immunol. 57, 427-439
- SREEVALSAN, T., J. TAYLOR-PAPADIMITRIOU, E. ROZENGURT (1979): Selective inhibition by interferon of serum-stimulated biochemical events in 3T3 cells.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 87, 679-685
- STEUBER, S. (1984): Charakterisierung und in vitro Stimulation peripherer Blutlymphozyten im Verlaufe einer experimentellen *Trypanosoma evansi*- (STEEL, 1885) Infektion beim Pony.
Vet.-med. Diss., FU Berlin
- STEWART II, W.E. (1979): The interferon system, 1-57.
Springer-Verlag, Wien, New York
- STOBO, J., I. GREEN, L. JACKSON, S. BARON (1974): Identification of a subpopulation of mouse lymphoid cells required for interferon production after stimulation with mitogens.
J. Immunol. 112, 1589-1593
- STRANDER, H., K. CANTELL, G. CARLSTROM, P.A. JAKOBSSON (1973): Clinical and laboratory investigations on man: Systemic administration of potent interferon to man.
J. Natl. Cancer Inst. 51, 733-739
- SVET-MOLDAVSKY, G.J., I.Y. CHERNYAKHOVSKAYA (1967): Interferon and the interaction of allogeneic normal and immune lymphocytes with L-cells.
Nature 215, 1299-1300
- TALAS, M., E.T. GLAZ (1979): Type I interferon induced in mice by infection with *Trypanosoma equiperdum*.
J. Infect. Dis. 139, 595-598

- TAN, Y.H., E.L. SCHNEIDER, J. TISCHFIELD, C.J. EPSTEIN, F.H. RUDDLE (1974): Human chromosome 21 dosage: effect on the expression of the interferon induced antiviral state.
Science 186, 61-63
- TARGAN, S.R. (1981): The dual interaction of prostaglandin E_2 (PGE_2) and interferon (IFN) on NK lytic activation: Enhanced capacity of effector-target lytic interactions (recycling) and blockage of pre-NK cell recruitment.
J. Immunol. 127, 1424-1428
- TARGAN, S.R., N. STEBBING (1982): In vitro interactions of purified cloned human interferons on NK cells: Enhanced activation.
J. Immunol. 129, 934-935
- TIMONEN, T., E. SAKSELA, I. VIRTANEN, K. CANTELL (1980): Natural killer cells are responsible for the interferon production induced in human lymphocytes by tumor cell contact.
Eur. J. Immunol. 10, 422-427
- TIZARD, I.R. (1981): Einführung in die veterinärmedizinische Immunologie, 85-99.
Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg
(Pareys Studentexte 30)
- TORLONE, V., F. TITOLI, L. GIALLETTI (1965): Circulating interferon production in pigs infected with Hog cholera virus.
Life Sci. 4, 1707-1713
- TOY, J.L. (1983): Interferons.
Clin. exp. Immunol. 54, 1-13
- TRENT, J.M., S. OLSON, R.M. LAWN (1982): Chromosomal localization of human leukocyte, fibroblast, and immune interferon genes by means of in situ hybridization.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79, 7809-7813
- TRINCHIERI, G., D. GRANATO, B. PERUSSIA (1981): Interferon-induced resistance of fibroblasts to cytolysis mediated by natural killer cells: specificity and mechanism.
J. Immunol. 126, 335-340

- TRINCHIERI, G., D. SANTOLI, R.R. DEE, B.B. KNOWLES (1978):
Anti-viral activity induced by circulating lymphocytes
with tumor-derived or virus-transformed cells.
J. Exp. Med. 147, 1299-1313
- TYTELL, A.A., G.P. LAMPSON, A.K. FIELD, M.R. HILLEMANN (1967):
Inducers of interferon and host resistance. III.
Double-stranded RNA from Reovirus type 3 virions.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 58, 1719-1724
- UNKELESS, J.C. (1977): The presence of two Fc receptors on
mouse macrophages: evidence from a variant cell line
and differential trypsin sensitivity.
J. Exp. Med. 145, 931-947
- URQUHART, G.M. (1980): The pathogenesis and immunology of Afri-
can trypanosomiasis in domestic animals.
Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg. 74, 726-729
- URQUHART, G.M., M. MURRAY, P.K. MURRAY, F.W. JENNINGS, E. BATE
(1973): Immunosuppression in Trypanosoma brucei infec-
tions in rats and mice.
Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg. 67, 529-535
- VAN DAM, R.H., P.J.S. VAN KOOTEN, C.A.M. BOSMAN-KOORMAN, J.
NIEUVEHUIJS, N.M. PERIE, D. ZWART (1981): Trypano-
some mediated suppression of humoral and cell-media-
ted immunity in goats.
Vet. Parasitol. 8, 1-11
- VAN DAM, R.H., F.G. VAN ZIJDERVELD, P.J.S. VAN KOOTEN, J.A.
VAN DER DONK (1980): In vitro stimulation of peripheral
blood lymphocytes from ruminant species and horses:
A tool to demonstrate specific response of lymphoid
subpopulations to mitogens and antigens and to demon-
strate immunosuppression. In: Proc. 2nd Int.
Symp. vet. Lab. Diagnosticians, Lucerne, 93-96
- VILCEK, J., D.R. LOWY (1967): Interactions of interferon with
chick embryo cells.
Arch. gesamte Virusforsch. 21, 254-264

- VIRELIZIER, J.L., A.C. ALLISON, E. DE MAEYER (1977): Production by mixed lymphocyte cultures of a type II interferon able to protect macrophages against virus infections. *Infect. Immun.* 17, 282-285
- WALLACH, D., M. FELLOUS, M. REVEL (1982): Preferential effect of γ interferon on the synthesis of HLA antigens and their mRNAs in human cells. *Nature (Lond.)* 299, 833-836
- WALLEN, W.C., J.M. DEAN, D.O. LUCAS (1973): Interferon and the cellular immun response: seperation of interferon-producing cells. *Cell. Immunol.* 6, 110-112
- WEIL, J., C.J. EPSTEIN, L.B. EPSTEIN, J.J. SEDMAK, J.L. SABRAN, S.E. GROSSBERG (1983): A unique set of polypeptides is induced by γ interferon in addition to those induced in common with α and β interferons. *Nature (Lond.)* 301, 437-439
- WEISS, A., F.W. FITCH (1978): Suppression of plaque-forming cell response by macrophages present in the normal spleen. *J. Immunol.* 120, 357-359
- WELLHAUSEN, S.R., J.M. MANSFIELD (1980): Lymphocyte function in experimental African trypanosomiasis III. Loss of lymph node cell responsiveness. *J. Immunol.* 124, 1183-1186
- WELSH, R.M., K. KARRE, H. HANSSON, L.A. KUNKEL, R.W. KEISSLING (1981): Interferon-mediated protection of normal and tumor target cells against lysis by mouse natural killer cells. *J. Immunol.* 126, 219-225
- WHEELOCK, E.F. (1965): Interferon-like virus-inhibitor induced in human leukocytes by phytohemagglutinin. *Science* 149, 310-311

- WING, E.J., J.S. REMINGTON (1980): Delayed hypersensitivity and macrophage functions. In: H.H. FUDENBERG, D.P. STITES, J.L. CALDWELL, J.V. WELLS, Basic and clinical immunology, 129-143. Lange Medical Publications, Los Altos, California
- WIRANOWSKA-STEWART, M., W.E. STEWART II (1977): The role of human chromosome 21 in sensitivity to interferons. J. Gen. Virol. 37, 629-633
- WIRANOWSKA-STEWART, M., W.E. STEWART II (1981): Determination of human leukocyte populations involved in production of interferon alpha and gamma. J. Interferon Res. 1, 233-244
- WONG, G.H.W., I. CLARK-LEWIS, J.L. McKIMM-BRESCHKIN, A.W. HARRIS, J.W. SCHRADER (1983): Interferon- γ induces enhanced expression of Ia and H-2 antigens on B lymphoid, macrophage, and myeloid cell lines. J. Immunol. 131, 788-793
- WOO, P.T.K. (1969): The haematocrit centrifuge technique for the detection of trypanosomes in blood. Can. J. Zool. 47, 921-923
- WOO, P.T.K. (1977): Salivarian trypanosomes producing disease in livestock outside of Sub-Saharan Africa, 269-296. In: J.P. KREIER, Parasitic protozoa I. Academic Press, London
- WÜST, B. (1980): Beitrag zur Pathogenese der Anämie sowie labor-diagnostische Untersuchungen bei der Trypanosoma evansi (STEEL, 1885)- Infektion von Ponys. Vet.-med. Diss., FU Berlin
- YARON, M., I. YARON, D. GURARI-ROTMAN, M. REVEL, H.R. LINDNER, U. ZOR (1977): Stimulation of prostaglandin E production in cultured human fibroblasts by poly(I)-poly(C) and human interferon. Nature (Lond.) 267, 457-459
- YILMA, T., T.C. McGUIRE, L.E. PERRYMAN (1982): Preliminary characterization of equine interferons and their antiviral activities on bovine, ovine, and human cells. J. Interferon Res. 2, 363-370

Die Zeitschriften wurden abgekürzt nach:

Bioscience Information Service, Volume 1979, Serial Sources
for the Biosis Data Base, Philadelphia, Pa. 19103

Herrn Prof. Dr. F. Hörchner danke ich für die Überlassung des Themas.

Mein besonderer Dank sei Herrn Dr. J.S. Ahmed ausgesprochen, der jederzeit um eine ausgiebige Beratung und Unterstützung der experimentellen Untersuchungen und der Anfertigung der Arbeit bemüht war.

Herrn Prof. Dr. H. Kirchner und seinen Mitarbeitern danke ich für die Beratung in seinem Institut für Virusforschung im Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg und die Überlassung labordiagnostischer Materialien.

Prof. Dr. V. von Bülow und Prof. Dr. G. Pauli danke ich für ihre technische und Frau Dr. G. Arndt für ihre statistische Beratung.

Ebenfalls danke ich allen Mitarbeitern des Instituts für Parasitologie und Tropenveterinärmedizin des Fachbereichs Veterinärmedizin der FU Berlin, die mir bei der technischen Durchführung der Arbeit behilflich waren.

LEBENS LAUF

Name	: Jochen Krüger
Geburtsdatum	: 29.08.1953
Geburtsort	: Gelsenkirchen
Eltern	: Siegfried, Joachim Krüger Emilie Krüger
1960-1961	: Besuch der Volksschule in Gelsenkirchen
1961-1964	: Besuch der Volksschule in Ratingen-Hösel
1964-1973	: Besuch des Theodor Heuss-Gymnasiums in Kettwig an der Ruhr
1973-1974	: Wehrdienst bei der Bundeswehr
1974-1975	: Studium der Rechtswissenschaften an der Ruhr-Universität in Bochum
1975-1977	: Studium der Agrarwissenschaften an der Georg-August Universität in Göttingen
1977-1983	: Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin
Juni 1983	: Staatsexamen
Oktober 1983	: Approbation als Tierarzt

